DOI:10.13193/j.issn.1673-7717.2025.03.007

基于中红外光谱技术结合 HPLC 对不同产地地黄快速无损鉴别

乔璐[1,2],阴紫钰[1,3],段浩瀚[1],谢赢赢[1],徐可可[1,2],刘永红[1,2],李菊香[1],董诚明[1,2],王磊[1]
(1. 河南中医药大学药学院,河南 郑州 450046;2. 河南省道地药材生态种植工程技术研究中心,河南 郑州 450046;
3. 北京中医药大学中药学院,北京 100105)

摘要:目的 对不同产地地黄的快速无损鉴别。方法 采集四个省 16 个县区地黄样品的红外吸收光谱进行差异性分析,找出代表差异性的特征波段,利用高效液相色谱法的结果验证红外差异性分析的结果。结果 166 批样品的红外光谱峰形基本相似,在 2928、1643、1419、1353、1238、1145、1053、925、799、700 ~ 543 cm^{-1} 波位处有相同的吸收峰。其中河南省内 3 个地区的样品差异主要出现在 1519 ~ 1494 cm^{-1};河北省内不同产地样品差异主要在 1571 和 1020 cm^{-1} 处;山西省内不同产地样品差异主要在 1790 ~ 1642、1440、1030 cm^{-1};各省之间差异性比较中,山东省与其他各省具有明显差异,主要出现在 1331、1582 cm^{-1};各县区之间的差异主要出现在 1796、1718、1640、1606 ~ 1567、1492、1453、1277、1024 cm^{-1}。结论 红外光谱结合高效液相色谱法可实现对不同产地地黄的快速无损鉴别。

关键词:地黄;中红外光谱;高效液相色谱法;不同产地;聚类分析
中图分类号:R282.71 **文献标志码**:A **文章编号**:1673-7717(2025)03-0042-12

Rapid and Nondestructive Identification of Dihuang(*Rehmannia glutinosa*) of Different Origins Based on Infrared Spectroscopy and High Performance Liquid Chromatography

QIAO Lu[1,2], YIN Ziyu[1,3], DUAN Haohan[1], XIE Yingying[1], XU Keke[1,2], LIU Yonghong[1,2], LI Juxiang[1], DONG Chengming[1,2], WANG Lei[1]
(1. School of Pharmacy, Henan University of Chinese Medicine, Zhengzhou 450046, Henan, China;
2. Henan Provincial Ecological Planting Engineering Technology Research Center of Authentic Medicinal Materials, Zhengzhou 450046, Henan, China;
3. Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100105, China)

Abstract: *Objective* To carry out the rapid and nondestructive identification of Dihuang(*Rehmannia glutinosa*) of different origins. *Methods* The infrared absorption spectrum of a total of 166 batches of Dihuang(*Rehmannia glutinosa*) in 16 counties and districts in four provinces was collected for differential analysis, and the results of the analysis were verified by high performance liquid chromatography. *Results* The infrared spectra of the 166 samples were basically similar in peak shape, with the same absorption at 2928, 1643, 1419, 1353, 1238, 1145, 1053, 925, 799, 700 ~ 543 cm^{-1}. The differences between samples from the three sites in Henan Province were mainly at 1519 ~ 1494 cm^{-1}. The differences between samples from different sites in Hebei Province were mainly at 1571 and 1020 cm^{-1}. The differences between samples from different sites in Shanxi Province were mainly at 1790 ~ 1642, 1440, 1030 cm^{-1}. Then among the differences between provinces, Shandong Province was significantly different from other provinces mainly at 1796, 1718, 1640, 1606 ~ 1567, 1492, 1453, 1277, 1024 cm^{-1}. Among of them, the main characteristic component in the band of 1640 ~ 1439 cm^{-1} was catalpol, and the strong absorption peak at 1052 cm^{-1} was C – O bond stretching vibration absorption in the structure of pistil side. Conlusion Infrared spectroscopy combined with HPLC can provide ideas for the rapid and non – destructive identification of different origins of Dihuang(*Rehmannia glutinosa*).

Keywords: Dihuang(*Rehmannia glutinosa*); mid – infrared spectroscopy; HPLC; different origins; clustering analysis

地黄为玄参科植物地黄 *Rehmannia glutinosa* Libosch 的新鲜或干燥块根[1-2],主产于河南省、河北省、山西省以及山东省,其中以河南省焦作市各县区为道地产区,为河南省“四大怀药”之一。地黄具有调节血液系统功能、改善内分泌功能等作用[3],其中发挥作用的有效成分为糖、苷以及氨基酸等。在 2020 版《中华人民共和国药典》中将梓醇和地黄苷 D 的含量作为衡量地黄药材标准的指标之一。由于经济因素和地黄自身的连作障碍等因素,地黄的产区逐渐由河南省向其他省份转移,地黄药材中各种有效成分的含量也随生长环境的改变而发生变化。因此迫切需要一种能够快速鉴别不同产地地黄质量的方法。中红外光谱能够反映被检测物质中各种官能团信息[4]。利用这一特点,可以推断不同产地地黄存在的不同化合物差异,如利用红外光谱对不同产地重楼的快速鉴别[5]、对不同产地香附炮制品的快速鉴别[6],还有外国学者如 LAM LISA M T 等[7]利用(Attenuated Total Reflection Flourier transformed Infrared Spectroscopy, ATR – FTIR)光谱对酵母菌的鉴别等[8-10]。

基金项目:国家重点研发计划项目(2017YFC1702800);河南省重大科技专项项目(171100310500);河南省科技攻关基金项目(222102310182);河南省大学生创新创业训练计划项目(202410471017);河南中医药大学博士科研基金项目(BSJJ2014 – 01)

作者简介:乔璐(1983 –),女,河南开封人,讲师,博士,研究方向:中药资源与质量评价。
通讯作者:董诚明(1963 –),男,内蒙古四子王旗人,教授,博士研究生导师,学士,研究方向:中药栽培与质量评价。E-mail:dcm88@sina.com。
王磊(1972 –),男,河南开封人,副教授,研究方向:中药学。E-mail:838133668@qq.com。

但其中大多数研究只是利用红外波段寻找差异性,结合高效液相色谱法验证红外差异性分析结果准确性的相关报道较少,因此本研究将以 4 省 166 批地黄块茎作为研究对象,采集样本红外光谱图,分析不同产地地黄的光谱差异性、提取特征光谱;借助高效液相法测定各样本中各成分的含量,验证红外光谱提取的特征波段所代表的成分差异的准确性。以期达到对不同产地地黄的快速无损鉴别[12]。

1 材料与实验方法

1.1 实验材料

如表 1 为河南省、河北省、山西省以及山东省总计 166 批地黄样品信息,均采自 2018 年 11 月,经河南中医药大学董诚明教授鉴定为玄参科植物地黄 *Rehmannia glutinosa* Libosch. 的块根(部分地黄采集信息表)。

表 1 地黄样品信息

批号	样品产地	坐标		土壤类型
H1 ~ H4	河南焦作博爱县	113°40′E	34°59′N	两合偏垆
H4 ~ H42	河南焦作武陟县	113°14′E	34°50′N	垆土
H43 ~ H44	河南焦作孟州市	113°21′E	35°24′N	农户收购
H45 ~ H46	河南焦作沁阳市	112°50′E	35°10′N	垆土
H47 ~ H49	河南焦作温县	113°08′E	34°93′N	农户收购
H50	河南周口商水县	114°60′E	33°53′N	农户收购
H7 ~ H9	河南新乡原阳县	113°38′E	35°01′N	两合土
B1	河北保定博野县	115°47′E	38°45′N	农户收购
B2 ~ B6	河北邯郸成安县	114°45′E	36°24′N	红土(胶泥土)
B7	河北邯郸磁县	114°27′E	36°24′N	沙土
B8 ~ B9	河北邯郸临漳县	114°44′E	36°19′N	两合土
B10 ~ B11	河北邯郸魏县	114°51′E	36°19′N	胶泥土
B12	河北衡水安平县	115°22′E	38°12′N	农户收购
B13 ~ B16	河北省安国市明官店乡	115°17′E	38°19′N	农户收购
B17 ~ 18	河北石家庄藁城市	114°46′E	38°15′N	沙壤土
B19	河北石家庄无极县	115°03′E	38°13′N	沙土地
B20	河北石家庄辛集市	115°22′E	37°92′N	农户收购
S1 ~ S2	山西临汾古县	112°92′E	36°26′N	农户收购
S3 ~ S4	山西临汾洪洞县	111°67′E	36°25′N	农户收购
S5	山西临汾曲沃县	111°33′E	35°40′N	栽子地
S6	山西临汾襄汾县	111°22′E	35°51′N	沙壤土
S7 ~ S8	山西临汾翼城县	111°40′E	35°45′N	黄土(棉土)
S9 ~ S10	山西省运城新绛县	111°06′E	35°30′N	红土(垆土)
S11 ~ S12	山西运城稷山县	110°50′E	35°28′N	红土(胶泥土)
S8 ~ S10	山西运城临猗县	110°25′E	35°12′N	沙壤土
S11 ~ S12	山西运城万荣县	110°48′E	35°29′N	沙壤土
S13 ~ S14	山西运城夏县	111°08′E	35°11′N	垆土
S11 ~ S13	山西运城永济县	110°17′E	34°45′N	滩地
D1	山东菏泽单县	116°04′E	34°49′N	农户收购

1.2 实验仪器

傅里叶变换红外显微系统及 ATR 晶体台面(德国 BRUKER 公司)、电子天平(上海民桥精密科技仪器有限公司)、103B 型四两装高速中药粉碎机(瑞安市永历制药机械有限公司)、高效液相色谱仪(美国 WATERS 公司)。

1.3 实验方法

1.3.1 红外光谱仪参数 光谱采集范围 4000 ~ 400 cm^{-1},分辨率 4 cm^{-1},扫描时间 35 s,每单个样品重复测定 5 次,取平均光谱[25]。166 批地黄样品的中红外原始光谱见插页Ⅲ图 1。

1.3.2 光谱预处理 利用 OPUS 8.2.21 软件,对该谱图进行基线校正,基线校正后见插页Ⅲ图 2。由于光谱在检测过程中,会受到环境的影响,因此通过基线校正可以基本消除噪声和基线漂移,从而保证检测的准确性。并对图谱进行平滑处理,处理后见插页Ⅲ图 3。平滑处理可以降低计算机本身出现的误差并提高信噪比,提高图谱的准确性。

1.3.3 地黄中各成分的含量测定 高效液相色谱法测定不同产地地黄中梓醇、毛蕊花糖苷以及地黄苷 D 的含量[11]。分别对各成分的含量按不同县区、不同省做平均处理,得到表 2、表 3。

表 2 平均各县区地黄有效成分含量 单位:%

各县市	浸出物含量	多糖含量	梓醇含量	毛蕊花糖苷含量	地黄苷 D 含量
河南焦作武陟	88.130 0	13.164 4	3.601 1	0.220 0	0.215 6
河南焦作温县	87.290 0	12.323 6	3.843 4	0.253 3	0.199 7
河南焦作孟州	86.265 2	14.304 8	3.277 3	0.121 9	0.207 7
河北安国市明官店乡村	88.053 3	14.320 6	3.475 0	0.067 5	0.216 0
河北石家庄藁城区	89.936 1	11.388 6	3.690 0	0.058 7	0.326 4
河北邯郸成安县	86.590 1	12.094 8	3.383 9	0.071 9	0.255 1
河北邯郸市临漳县	89.841 8	16.295 6	3.585 5	0.052 0	0.222 4
河北省邯郸市魏县	90.898 6	11.498 4	4.232 9	0.045 2	0.241 2
河北省邯郸市磁县	84.549 5	14.807 0	3.716 8	0.036 2	0.184 7
山西省运城市稷山县	88.095 1	14.674 8	3.188 1	0.064 1	0.206 8
山西省运城市夏县	83.492 4	12.879 6	3.784 3	0.359 8	0.204 4
山西省永济市韩阳镇	85.466 9	19.363 5	2.947 2	0.221 5	0.262 8
山西省运城市临猗县	86.027 0	13.002 1	4.746 3	0.029 7	0.253 8
山西省运城市新绛县	88.002 8	13.981 0	3.854 1	0.083 1	0.254 1
山西省临汾市襄汾县	87.894 3	18.083 4	3.701 4	0.172 1	0.320 5
山西省运城市万荣县	85.313 0	14.633 5	3.910 3	0.054 1	0.248 7

表 3 平均各省地黄有效成分含量 单位:%

省份	浸出物含量	多糖含量	梓醇含量	毛蕊花苷含量	地黄苷 D 含量
河北省	87.945 0	13.328 0	3.668 4	0.058 8	0.246 9
山西省	86.411 1	15.102 9	3.692 2	0.122 5	0.245 2
河南省	87.245 6	13.069 8	3.627 9	0.209 4	0.206 1
山东省	86.865 0	13.471 0	3.612 1	0.117 1	0.243 5

2 实验结果

2.1 各地样品的红外光谱全波段解析

2.1.1 各地地黄样品的红外光谱全波段解析 如插页Ⅲ图 3 所示,各地地黄的平均光谱在 2928、1643、1419、1353、1238、1145、1053、925、799、700 ~ 543 cm^{-1} 波位处有相同的峰,仅峰的吸收度大小存在差异。除 2300 cm^{-1} 附近二氧化碳峰存在的差异忽略外,各地在 3378 ~ 3295、1053 cm^{-1} 波段处存在明显的峰位及峰强差异,因此各地地黄的红外吸收光谱的大致趋势是相同的。

其中 3378 ~ 3295 cm^{-1} 为羟基 O - H 伸缩振动吸收峰。2928、2828 cm^{-1} 左右的双峰是亚甲基 C - H 伸缩振动峰。1643 cm^{-1} 处的峰表征为水分子的 O - H 键的弯曲振动、酰胺类 N - H 键的弯曲振动以及共轭羰基 C = O 键的伸缩振动吸收峰。1419、1353 cm^{-1} 附近的峰为饱和烷基的 C - H 键的弯曲振动吸收峰。1238 cm^{-1} 处为 C - H 键的弯曲振动和 C - O 键的伸缩振动的叠加吸收峰。1145 cm^{-1} 处为羧基 - COOH 结构 C - O 的弯曲振动吸收峰。1053、994、925 cm^{-1} 附近出现的多个强峰为 C - O 键伸缩振动产生吸收峰。650 ~ 540 cm^{-1} 范围内的多个小峰应为苯环取代基内的 C - H 键的面外弯曲振动的吸收峰[10]。

该图证明各地地黄所含有的主要成分基本是一致的,但由于不同产地地黄主要成分的含量有所差异,所以红外吸收峰之间存在些许差异。因此借助此图无法对不同产地的地黄进行

明显区分。

2.1.2 四个省份地黄与标准品的 ATR 红外光谱的比较分析 如插页Ⅳ图 4、表 4 即展示了 4 个产地地黄与梓醇标准品的 ATR 红外图谱中相对应的峰位：

表 4 4 个省与梓醇标准品红外光谱对应峰

梓醇标准品 ATR 红外光谱	4 个产地地黄 ATR 红外光谱
3410 ~ 3284 cm^{-1}	3382 ~ 3302 cm^{-1}
2901 cm^{-1}	2920 cm^{-1}
1671 cm^{-1}	1633 cm^{-1}
1387 ~ 1340 cm^{-1}	1410 ~ 1248 cm^{-1}
1091、1058、1030 cm^{-1}	1010、1053、1032 cm^{-1}
525 cm^{-1}	579 ~ 546 cm^{-1}

其中 3410 ~ 3284 cm^{-1} 表征梓醇结构中羟基的 O - H 的伸缩振动峰。2901 cm^{-1} 表征梓醇结构中亚甲基的 C - H 伸缩振动峰。1671 cm^{-1} 左右的峰表征为水分子的 O - H 弯曲振动以及共轭羰基 C = O 的伸缩振动。1387 ~ 1340 cm^{-1} 附近的峰表征 C - H 弯曲振动峰，表示梓醇结构中含有的烷基。1058 ~ 1030 cm^{-1} 范围内出现的强宽峰为梓醇结构中 C - O 键的伸缩振动吸收峰。650 ~ 540 cm^{-1} 范围内的多个小峰应表征梓醇中苯环取代的 C - H 面外弯曲振动。

如插页Ⅳ图 5，下表 5 即展示了 4 个产地地黄与毛蕊花糖苷标准品的 ATR 红外图谱中相对应的峰位。

表 5 4 个省与毛蕊花糖苷标准品红外光谱对应峰

毛蕊花糖苷标准品 ATR 红外光谱	4 个产地地黄 ATR 红外光谱
3352 cm^{-1}	3382、3302 cm^{-1}
2936 cm^{-1}	2920 cm^{-1}
1375 cm^{-1}	1410 cm^{-1}
1276 cm^{-1}	1344 cm^{-1}
1025 cm^{-1}	1053 ~ 1032 cm^{-1}

插页Ⅳ图 5 中 3352 cm^{-1} 处的宽峰表征毛蕊花糖苷分子结构中羟基的 O - H 的伸缩振动吸收。2936 cm^{-1} 左右的峰表征毛蕊花糖苷分子结构中亚甲基的 C - H 伸缩振动吸收。1375 cm^{-1}、1276 cm^{-1} 附近的峰表征烷基 C - H 弯曲振动吸收。1052 cm^{-1} 处的强吸收峰为毛蕊花糖苷结构中 C - O 键伸缩振动吸收。

综上，该结果证明四个省份地黄样品中含有梓醇与毛蕊花糖苷成分，但因为不同产地所含有的有效成分存在差异，不同成分相同官能团化学键之间的叠加，所以导致代表不同化合物的波段对应的吸收峰出现差异。

2.2 各省份内不同产地的地黄红外光谱的差异性分析

分别对河南省、河北省、山西省内各县区的不同产地的地黄进行差异性分析。由于山东省样本数量较少，因此不针对山东省内进行差异性分析。

2.2.1 河南省内不同产地地黄的差异性分析 将河南省内焦作温县、焦作武陟和焦作孟州 3 个地区地黄红外吸收光谱分别做平均处理，得到河南省内 3 个地区的平均地黄红外光谱，见插页Ⅳ图 6。

从图 6 中可以看出河南省内 3 个地区的地黄在 3300、2926、1636、1416、1349、1252、1142、1035、998、928 cm^{-1} 处均有相同趋势的吸收峰，仅吸收强度有不同，此外在 1636、1142 ~ 928 cm^{-1} 波段处有微弱的峰位差异，在该图中较难分析其差异性，经比较发现二阶求导能够使差异性更显著，因此将1900 ~ 900 cm^{-1} 波段进行二阶求导，放大其差异性。如插页Ⅴ图 7、插页Ⅴ图 8 分为河南省 3 个地区平均的二阶红外光谱 1900 ~ 1200 cm^{-1} 段和 1200 ~ 900 cm^{-1} 段。

如插页Ⅴ图 7，在 1900 ~ 1200 cm^{-1} 波段内 3 个地区分别在 1591、1494 cm^{-1} 处出现差异。1591 cm^{-1} 处武陟和温县两地有微弱小峰，孟州未出峰。1494 cm^{-1} 处武陟和孟州有微弱的出峰趋势，温县无出峰趋势。1591 cm^{-1} 附近有水分子的 O - H 键的弯曲振动、酰胺类 N - H 键的弯曲振动以及共轭羰基 C = O 键的伸缩振动吸收峰。如插页Ⅴ图 8，在 1200 ~ 900 cm^{-1} 波段内，3 个地区的二阶红外光谱未出现差异。

综上，河南省武陟、温县和孟州 3 个地区的地黄红外光谱差异仅出现在 1591、1494 cm^{-1} 处。在 1591 波段处，孟州与其他两地存在差异，其中 1591 cm^{-1} 附近有 C = O 键的伸缩振动，根据标准品的红外光谱发现，仅毛蕊花糖苷在 1519 cm^{-1} 附近有一吸收峰。且根据 HPLC 含量测定结果发现，孟州毛蕊花糖苷的含量为 0.25%，高于其他两地（见表 2），因此认为 1591 cm^{-1} 附近的峰可能表征毛蕊花糖苷。

2.2.2 河北省内不同产地地黄的差异性分析 将河北省内安国明官店乡、邯郸成安县、邯郸磁县、邯郸临漳县、邯郸魏县以及石家庄藁城区 6 个地区的地黄红外吸收光谱分别做平均处理，得到河北省内 6 个地区的平均地黄红外光谱，见插页Ⅴ图 9。

从插页Ⅴ图 9 中可以看到，各地吸收峰趋势基本一致，仅峰强稍有差异。但在 1639 ~ 924 cm^{-1} 波段内有微弱的峰位差异，因此选择 1900 ~ 900 cm^{-1} 波段进行二阶求导，将该波段的差异放大。插页Ⅵ图 10、插页Ⅵ图 11 即分别为 1900 ~ 1200、1200 ~ 900 cm^{-1} 波段的红外二阶吸收光谱。

如图 10，在 1900 ~ 1200 cm^{-1} 内可以发现河北省 6 个地区差异显著，分别在 1900、1889、1805、1797、1762、1719 ~ 1710、1638、1596 ~ 1571、1493、1453、1272 cm^{-1} 处存在差异。在 1900、1889 cm^{-1} 两处，6 个地区的峰谷和峰顶的波位均有差异。1805 cm^{-1} 处除邯郸磁县外，其他 5 个地区均有出峰趋势。1797 cm^{-1} 处石家庄藁城区、安国明官店乡有一个吸收峰，邯郸临漳县、邯郸魏县在 1781 cm^{-1} 处有一个吸收峰，邯郸磁县和邯郸成安县在此范围内未出峰。1762 cm^{-1} 处邯郸临漳县有出峰趋势，其他 5 个地区没有出峰趋势。1717 cm^{-1} 处仅安国明官店乡有一个小吸收峰。1638 cm^{-1} 处，邯郸磁县、石家庄藁城区和安国明官店乡有一个微弱出峰趋势。在 1596 ~ 1571 cm^{-1} 范围内 6 个地区均有一个波谷，但 6 个波谷的波位均不同，且 1571 cm^{-1} 处，邯郸临漳县、安国明官店乡和石家庄藁城区 3 地有一个明显的吸收峰，而其他 3 个地区几没有出峰。1493 cm^{-1} 处仅安国市明官店乡有一个类“双驼峰”，其他 5 个地区仅有一个吸收峰。其中 1638 cm^{-1} 处有水分子的 O - H 键的弯曲振动、酰胺类 N - H 键的弯曲振动以及共轭羰基 C = O 键的伸缩振动吸收峰。1571 cm^{-1} 附近有烷基 C - H 的弯曲振动吸收峰[24]。

如插页Ⅵ图 11，在 1200 ~ 900 cm^{-1} 波段内，1020 cm^{-1} 处邯郸临漳县有一个明显峰谷，其他 5 个地区的峰谷趋势很弱。其中 1020 cm^{-1} 附近有 C - O - C 的不对称伸缩振动及 C - O 的伸缩振动吸收峰。

综上，在 1571 和 1020 cm^{-1} 处，临漳与其他 5 个产地存在差异。其中 1020 cm^{-1} 附近有 C - O - C 的不对称伸缩振动及 C - O 的伸缩振动吸收峰。1571 cm^{-1} 附近有烷基的 C - H 的弯曲振动吸收峰。结合 HPLC 测得的数据发现，在各种成分中，临漳县的多糖含量为 16.2% 要明显高于河北省内其他 5 个地区（见表 2）。结合多糖分子中含有较多的烷基以及羟基，因此认为 1571 和 1020 cm^{-1} 附近的峰可以共同表征多糖类成分。

2.2.3 山西省内不同产地地黄的差异性分析 将山西省内临汾襄汾县、永济韩阳县、运城临猗县、运城万荣县、运城夏县、运

城新绛县、运城稷山县 7 个地区的地黄红外吸收光谱分别做平均处理，得到山西省内 7 个地区的平均地黄红外光谱，见插页Ⅵ图 12。

由插页Ⅵ图 12 可以看出，7 个地区的差异主要在 1624、1240、1144～922 cm^{-1}处，因此选择 1900～900 cm^{-1}波段进行二阶求导，放大该波段的差异以便分析。插页Ⅶ图 13、插页Ⅶ图 14 即分别为1900～1200、1200～900 cm^{-1}波段的红外二阶吸收光谱。

如插页Ⅶ图 13 为 1900～1200 cm^{-1}波段的二阶光谱图。在1990～1900 cm^{-1}范围内，除运城夏县外，其余 6 个地区均有一处波谷。在 1810 cm^{-1}处临汾襄汾县有一处峰，其他六个省份没有峰。1794 cm^{-1}处万荣县、稷山县有两个峰，韩阳县和临猗县仅有 1792 cm^{-1}一个峰，夏县和新绛县也仅有一个峰稍蓝移至 1794 cm^{-1}处，此外，临汾襄汾县在此处的峰较其他 6 个地区明显蓝移。1718 cm^{-1}处运城夏县和临猗县有一个较明显的峰，其他 4 个地区在此处无峰。1659 cm^{-1}处，除运城稷山县未出峰，其他 6 个地区均有一个明显的峰。1642～1637 cm^{-1}内，仅运城临猗县有两个峰，仅永济韩阳县在 1637 cm^{-1}处有一个峰，其余 5 个地区均在 1642 cm^{-1}处有一个峰。1607～1566 cm^{-1}范围内，7 个地区均有明显差异，该范围内，韩阳县和夏县有一处相同波谷，万荣县和稷山县有一处相同出峰趋势。在 1493～1489 cm^{-1}范围内，临猗县、新绛县和万荣县有两个峰，襄汾县和韩阳县在 1493 cm^{-1}处有一个峰，稷山县和夏县在 1489 cm^{-1}处有一个峰。仅新绛县一个地区在 1436 处出一个峰，稷山县和夏县在 1436 cm^{-1}处有一个峰，其余 6 个地区在该范围内出两个峰。1274 cm^{-1}处，仅韩阳县和夏县有一个明显的峰。如图 14，在 1200～900 cm^{-1}的二阶谱图中，7 个地区在 1030 和 934 cm^{-1}两处有差异，其中 1030 cm^{-1}处差异更明显，1032～1024 cm^{-1}内，仅新绛县分别在 1032 和 1024 cm^{-1}处出两个峰，其他 6 个地区仅在 1032 cm^{-1}处出一个峰。

综上，在 1794～1718 cm^{-1}范围附近有 C＝O 的伸缩振动吸收峰，根据红外光谱差异性分析，该范围内临猗县和夏县之间存在较大差异，猜测该波段主要表征毛蕊花糖苷成分，结合 HPLC 的含量测定结果，发现临猗县的毛蕊花糖苷含量最少，夏县含量最高，可见含量测定结果与光谱差异性分析结果一致。在 1493～1489 cm^{-1}范围附近有 C－H 弯曲振动吸收峰，根据红外差异性分析，发现在该范围内临猗、新绛和万荣县 3 地相似与其他地区存在差异，结合 HPLC 的含量测定结果发现，这 3 个地区的梓醇含量临猗县为 4.74%、新绛县为 3.85%、万荣县为 3.9%，均较其他几个地区的梓醇含量高。且对比标准品的红外光谱发现，梓醇标准品在该处出峰，因此含量测定结果与光谱的差异性分析结果一致。

2.3 4 个不同省份地黄红外光谱的差异性分析

分别对河南省、河北省、山西省以及山东省内各省份样品进行平均处理，见插页Ⅷ图 15，分别得到河南省、河北省、山西省和山东省 4 个省份的 4 条代表谱线，分别代表 4 省地黄的平均谱图。观察插页Ⅷ图 15 发现，4 个省份之间在全波段都有较明显的峰强差异，出峰有较一致的趋势，但在 1900～900 cm^{-1}特征波段内有一定的峰位差异，因此对光谱进行求导处理以放大其差异性，经过比较发现一阶求导更适合 4 省之间的差异性分析，故选择对该波段进行一阶求导处理。分别得到插页Ⅷ图 16、插页Ⅷ图 17 为 1900～1200 cm^{-1}和 1200～900 cm^{-1}波段的四省一阶红外光谱。

如插页Ⅷ图 16，在 1900～1200 cm^{-1}波段内山东省与其他 3 个省份有明显差异。如 1900～1800 cm^{-1}范围内山东省有多个峰而其他 3 个省份在此范围内平坦无峰。在 1735～1720 cm^{-1}内，山东省有两个峰，而其他 3 个省份仅有一个峰。在 1675 cm^{-1}附近山东省有 3 个波谷，其他 3 个省份仅有一个波谷。1582 cm^{-1}处山东省有两波峰一波谷，其他省份在此处仅有一个微弱峰。1545 cm^{-1}处山东省有一个明显小峰，其他 3 省没有峰。1483 cm^{-1}仅处山东省有一个小峰。1370 cm^{-1}处仅山东省有一个小峰，1434 cm^{-1}处仅山东省有一个明显波谷。1230 cm^{-1}处仅山东省有一个明显峰。如插页Ⅷ图 17，在 1200～900 cm^{-1}内，山东省与其他 3 个省的差异主要出现在 1069、1038 cm^{-1}处，这两处都仅有山东省出峰，其他省份在这两个地方未出峰。其中 1069、1038 cm^{-1}附近有 C－O 的伸缩振动吸收峰表征糖苷类成分；1434～1370 cm^{-1}附近有饱和烷烃 C－H 键弯曲振动[23]。

综上，在 4 个省份的差异性分析中，山东省与其他 3 个省份之间的差异较大，且差异成分可能为糖苷类成分。

2.4 几个不同县区之间的地黄红外光谱的差异性分析

分别将河南省焦作温县、焦作武陟和焦作孟州和河北省安国明官店乡、邯郸成安县、邯郸磁县、邯郸临漳县、邯郸魏县以及石家庄藁城区以及山西省临汾襄汾县、永济韩阳县、运城临猗县、运城万荣县、运城夏县、运城新绛县、运城稷山县共 16 个县区的红外吸收光谱共同进行差异性分析，如插页Ⅷ图 18，图中 16 个县区在不同波段均有相同峰，整体趋势一致，但在 1639、1032、992 cm^{-1}等处有一定的差异，因此选取 1900～900 cm^{-1}的特征波段进行二阶求导，将其差异性放大进行差异性分析。插页Ⅸ图 19、插页Ⅸ20 即分别为 1900～1200、1200～900 cm^{-1}波段的二阶红外光谱图。

在插页Ⅸ图 19 的 1900～1200 cm^{-1}波段内，具有明显差异的部分位 1796、1718、1640、1606～1567、1492、1453、1277 cm^{-1}处。1799 处仅襄汾县有一个峰，1796 附近仅万荣县有两个峰，1793 处仅襄汾有一个峰。1718 cm^{-1}处仅明官店乡村和夏县以及临猗县有一个峰，其他地区未出峰。1657 cm^{-1}处，除稷山县没有峰谷外，其他地区都有一个峰谷。1640 cm^{-1}处，仅临猗县有两个峰，韩阳县一个峰较 1640 cm^{-1}蓝移，其余地区峰均较 1640 cm^{-1}红移。1640～1606 cm^{-1}范围内各地区均有明显差异，峰数、峰位均不同。1492 cm^{-1}处，仅新绛、明官店乡村、万荣县以及临猗县有两个峰外，其余地区均只有一个峰。仅新绛县在 1439 高波数方向有一个峰，稷山县和夏县在 1439 cm^{-1}低波数方向有一个峰，其余地区在 1439 附近均有两个峰。1277 cm^{-1}处仅稷山县和磁县没有峰谷外，其余各地均有一个峰谷。在插页Ⅸ图 20 的 1200～900 cm^{-1}波段内，差异点主要在 1024 cm^{-1}附近，1024 cm^{-1}处仅新绛县有一个小峰，其余各县在此处均为峰谷。

综上，在 1796～1640 cm^{-1}范围内，明官店乡村、稷山县以及万荣县同其他地区差异较大，根据前文分析，该波段主要表征毛蕊花糖苷。根据 HPLC 测定含量结果验证，发现这 3 个地区的毛蕊花糖苷含量均偏低，明官店乡村为 0.06%，稷山县为 0.06%，万荣县为 0.054%。因此可以说明，1796～1640 cm^{-1}波段为毛蕊花糖苷的特征波段。在 1640～1439 cm^{-1}波段内，磁县、夏县、临猗县、新绛县以及万荣县与其他地区存在一定的差异，根据前文分析可知，该波段主要表征梓醇。利用 HPLC 测定的含量结果验证发现，磁县、夏县、临猗县、新绛县以及万荣县的梓醇含量在所有县区中均属较高部分，因此可以说明 1640～1439 cm^{-1}波段表征梓醇成分。

2.5 不同县区地黄红外光谱的聚类分析

如图 21，利用 OMNIC 9.0 和 SPSS 26 将 16 个县的红外光谱图进行聚类分析，结果将 16 个县区划分为两个表征群，其中山西新绛县单独为一个表征群，其他县区归属为另一个表征群。在第二大表征群下又分为两个表征群。由图 21 的结果表

明,山东单县与其他各县区差异较大,其次为山西新绛县与其余各县区差异较大,结果与上文中差异性分析的结果类似,因此证明了利用中红外对不同产地地黄快速鉴别的准确性。

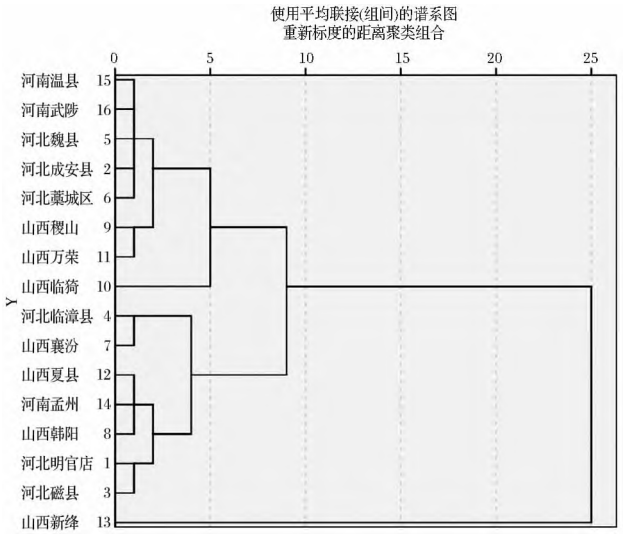


图21 各县区之间的聚类分析

3 结果与讨论

在各省内进行的差异性分析中,河南省内的孟州与其他两个产地存在差异,但差异性非常微小,结合含量测定他们之间的成分差异很小。该结果与通过高效液相测定实际含量以及聚类分析结果一致。因此也可以猜想正是因为今孟州、武陟和温县均属古怀庆府地区,同一地区土壤差异小,从而使今孟州、武陟和温县3个地区的地黄差异非常微小。河北省内的6地红外光谱差异性分析得出1571和1020 cm^{-1}处,临漳县与其他5个产地存在差异,结果与聚类分析中临漳县为单独一个表征群相符,且高效液相测定的含量结果中显示多糖含量临漳县的测得的明显高于其他5个地区,其次是明官店乡和磁县的含量最高,此数据亦符合聚类分析结果。在山西省内的7地的差异性分析中得出1440及1024 cm^{-1}波段处运城新绛与其他地区有一定差异,高效液相测得的梓醇含量中新绛县明显高于其他6个地区。在聚类分析的结果中新绛县在一个表征群内的二级表征群中单独占一个表征群,该结果还证明新绛县与其他地区存在的差异性成立。

4个省份之间的红外光谱差异性分析得出,山东省与其他3省存在明显差异,该分析与聚类分析结果一致。

最后在各县区之间的红外差异性分析出现在1796、1718、1640、1606~1567、1492、1453、1277、1024 cm^{-1}等处,分别使不同省各县区的差异有所体现。除此以外,这些差异通过聚类分析不仅表现了差异性,还体现了相似性,例如已知河南焦作温县所产地黄样品中各种有效成分含量高、质量好,那么在聚类分析中能与焦作温县聚为一类的其他省份县区的地黄有效含量猜想也应当很高。如图21中河北邯郸魏县、河北石家庄藁城区与河南焦作温县为一类,对比HPLC测得的有效成分含量发现,这两个地区所产地黄样品的浸出物、多糖及梓醇含量等均高于其他地区。

综上所述,运用红外光谱技术结合HPLC法不仅能够对不同产地地黄进行快速鉴别,还能够便于寻找适合药材生长的产地,希望能够为未来地黄药材的质量评价和综合评估提供新思路。

参考文献

[1] 李时珍. 本草纲目(上册)[M]. 北京:华夏出版社,2002:615-620.
[2] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典[S]. 北京:中国医药科技出版社,2020:1088.
[3] 陈金鹏,张克霞,刘毅,等. 地黄化学成分和药理作用的研究进展[J]. 中草药,2021,52(6):1772-1784.
[4] 赵正保,项光亚. 有机化学[M]. 北京:中国医药科技出版社,2016.
[5] 赵艳丽,张霁,袁天军,等. 近红外光谱快速鉴别不同产地药用植物重楼的方法研究[J]. 光谱学与光谱分析,2014,34(7):1831-1835.
[6] 乔璐,张瑞,赵博宇,等. 不同产地香附炮制品的快速鉴别[J]. 中成药,2022,44(5):1510-1515.
[7] LAM LISA M T, ISMAIL ASHRAF A, LÉVESQUE SIMON, et al. Multicenter evaluation of attenuated total reflectance Fourier transform infrared (ATR-FTIR) spectroscopy-based method for rapid identification of clinically relevant yeasts[J]. J Clin Microbiol, 2021, 60(1):139821.
[8] 吕都,唐健波,徐廷霞,等. 近红外光谱技术快速鉴别稻谷霉菌污染的研究[J]. 食品科技,2021,46(6):301-306.
[9] 虞佳,武春. 基于FTIR技术的食用植物油快速鉴别方法[J]. 黑龙江大学自然科学学报,2022,39(2):246-252.
[10] 赵晓燕,张彬,李倩,等. 小米结构及快速鉴别研究[J]. 粮食与饲料工业,2021(3):52-57,63.
[11] 李询,董诚明,齐大明,等. HPLC多成分测定及主成分分析法对不同产地鲜地黄质量评价[J]. 江苏农业科学,2020,48(19):225-229.
[12] 张维方,樊克锋,雷敬卫,等. 地黄药材的红外指纹图谱及多元统计分析[J]. 光谱学与光谱分析,2021,41(11):3392-3398.
[13] 李雯霞,王秀真,裴圆圆,等. 红外光谱法分析中药地黄三种不同炮制品[J]. 亚太传统医药,2020,16(12):36-39.
[14] 邓月娥,孙素琴,牛立元. 不同产地金钗石斛红外光谱解析[J]. 河南科技学院学报(自然科学版),2007(2):38-40.
[15] WANG FANG, JIA BIN, SONG XIANGWEN, et al. Rapid identification of peucedanum praeruptorum dunn and its adulterants by hand-held near-infrared spectroscopy[M]. Journal of AOAC International, 2021.
[16] ZHU WEIHAO, HONG HAO, HONG ZHIHUI, et al. Rapid quality identification of decoction pieces of crude and processed corydalis rhizoma by near-infrared spectroscopy coupled with chemometrics[J]. Journal of analytical methods in chemistry, 2021(5):2021.
[17] HUANG J H, ZHOU R R, HE D, et al. Rapid identification of Lilium species and polysaccharide contents based on near infrared spectroscopy and weighted partial least square method[J]. Int J Biol Macromol, 2020, 154(prepublish):182-187.
[18] 樊克锋,赵建平,汤法银,等. FTIR对酒炖熟地黄炮制终点的量化分析[J]. 中国兽药杂志,2017,51(9):49-55.
[19] 樊克锋,汤法银,赵建平,等. 红外光谱技术对生地黄整体评价[J]. 中国兽药杂志,2017,51(3):55-60.
[20] 何勇,郑启帅,张初,等. 基于中红外光谱和化学计量学算法鉴别核桃产地及品种[J]. 光谱学与光谱分析,2019,39(9):2812-2817.
[21] 张小青,孙小亮,潘庆华,等. 衰减全反射傅里叶变换红外光谱技术的临床应用研究进展[J]. 光谱学与光谱分析,2017,37(2):408-411.
[22] 张骆琪,刘苏伟,王飞,等. 地黄多糖超声提取工艺优化及其抗氧化活性[J]. 中成药,2018,40(12):2662-2667.
[23] 孔德鑫,黄荣韶,王一兵,等. 基于FTIR的鸡骨草药材化学成分整体分析与评价[J]. 时珍国医国药,2010,21(1):140-141.
[24] 贾豪,雷益铭,张维方,等. 牛膝药材的红外指纹图谱建立及多元统计分析[J]. 中国药房,2022,33(2):153-159.
[25] 王鑫源,董诚明,杨林林,等. 基于中红外光谱技术对不同产地地黄的定性及定量分析[J]. 中华中医药学刊,2022,40(8):54-57,265-267.

基于中红外光谱技术结合 HPLC 对不同产地地黄快速无损鉴别

（正文见 42－46 页）

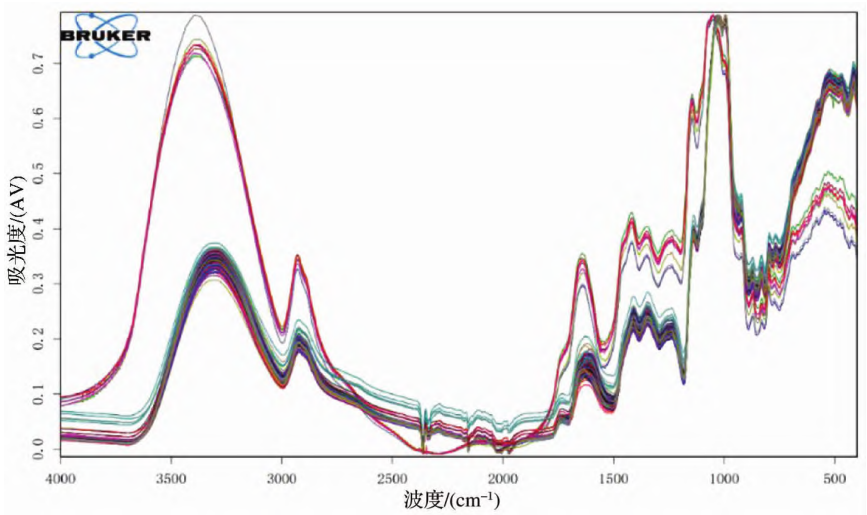


图 1　不同产地地黄原始红外光谱图

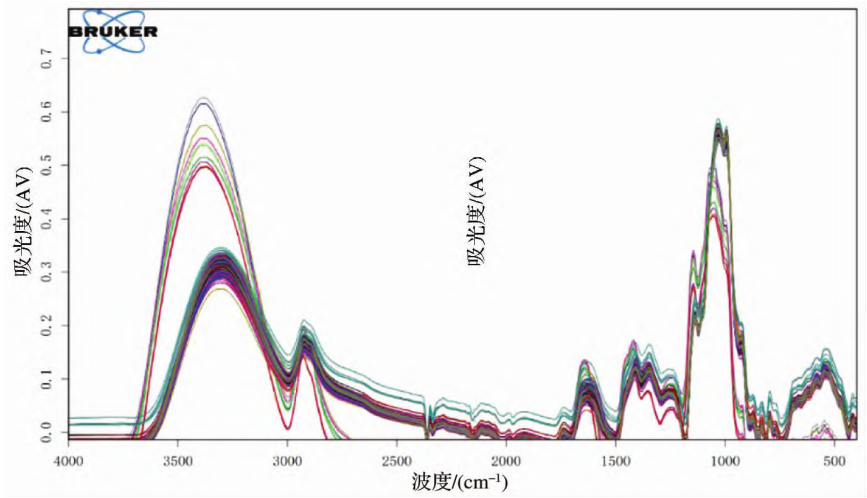


图 2　不同产地地黄原始红外光谱图基线校正

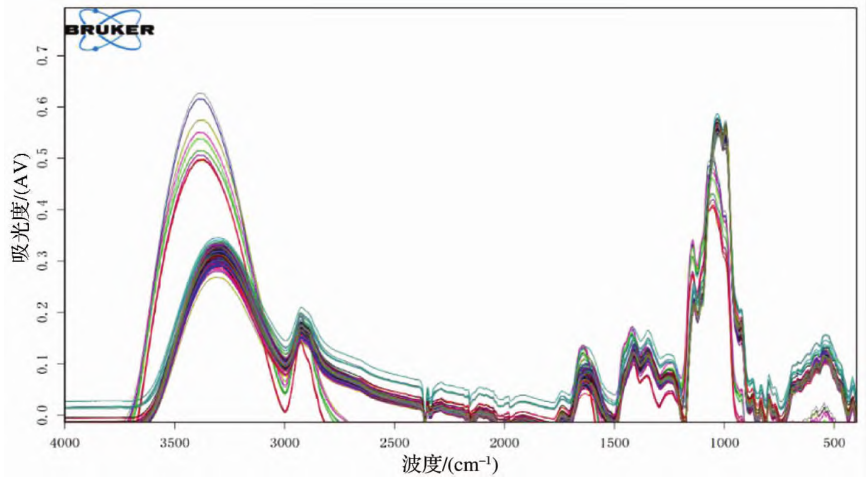


图 3　不同产地地黄原始红外光谱图平滑

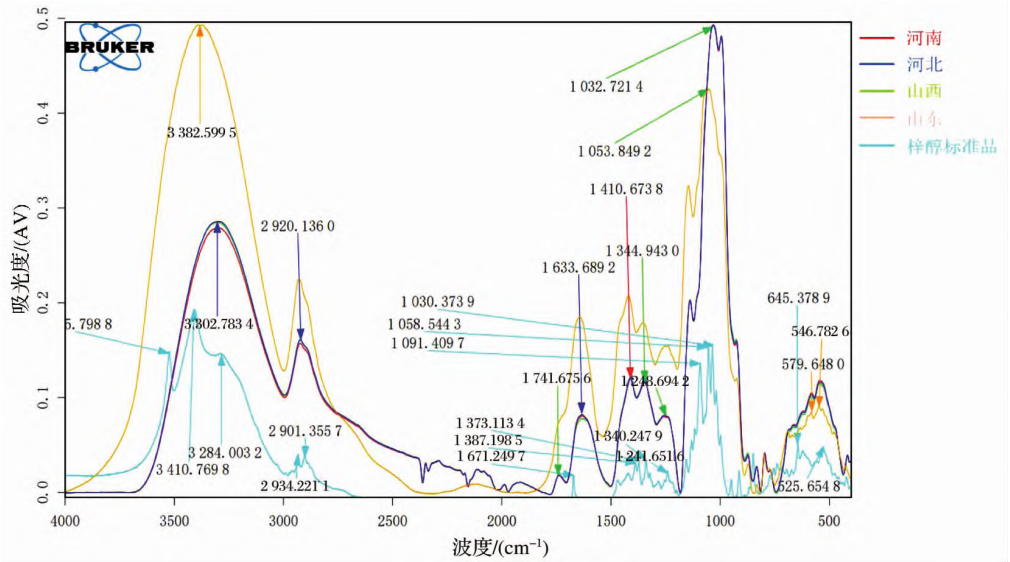


图 4 4 个省与梓醇标准品的红外吸收光谱

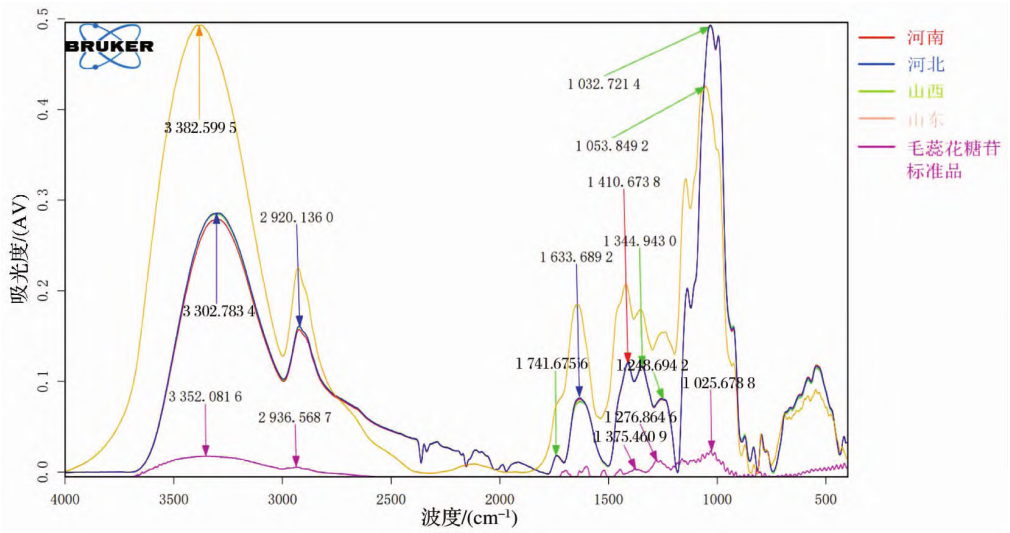


图 5 4 个省与毛蕊花糖苷标准品的红外吸收光谱

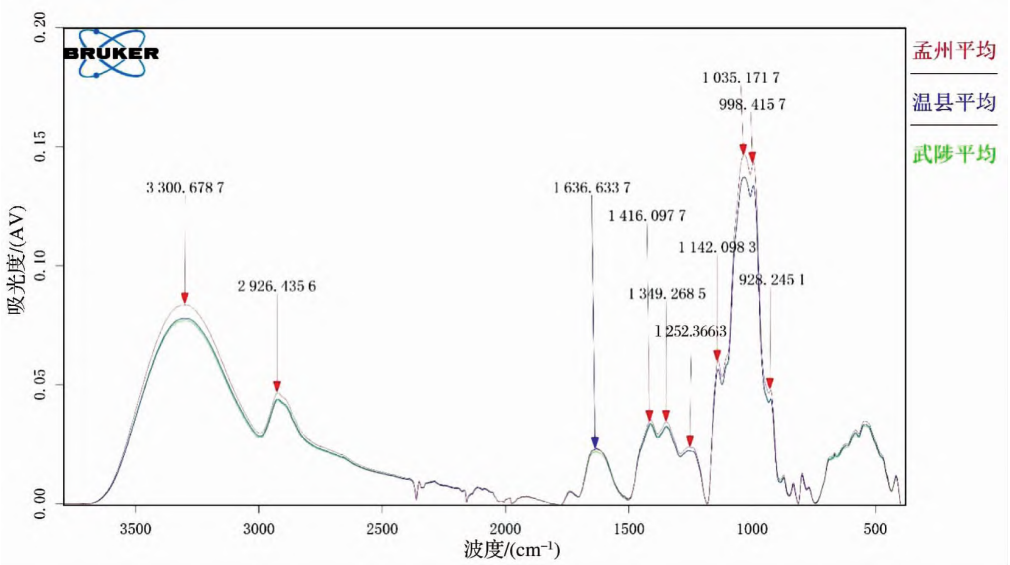


图 6 河南省内 3 个地区的红外吸收光谱

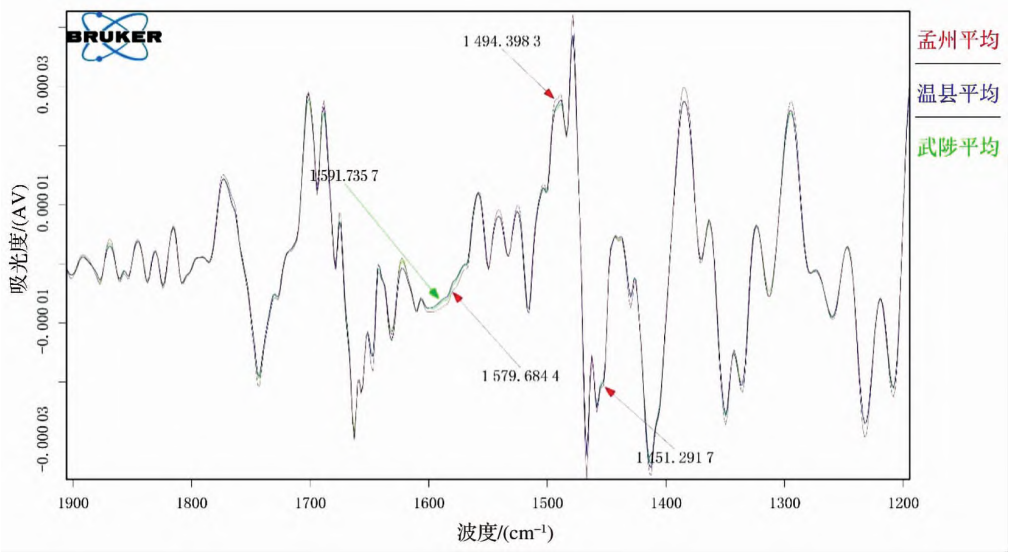


图 7　河南省内 3 个地区二阶红外光谱(1900 ~ 1200 cm^{-1})

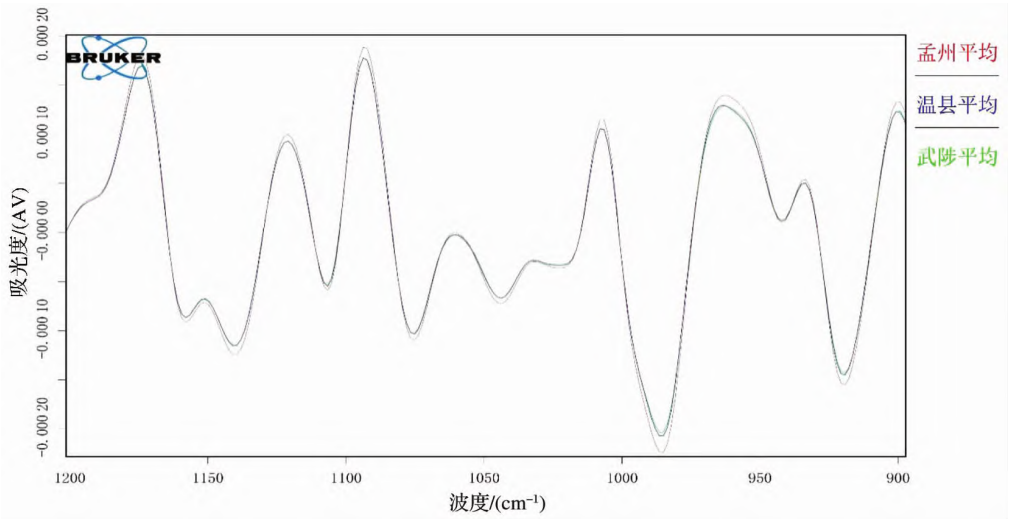


图 8　河南省内 3 个地区二阶红外光谱(1200 ~ 900 cm^{-1})

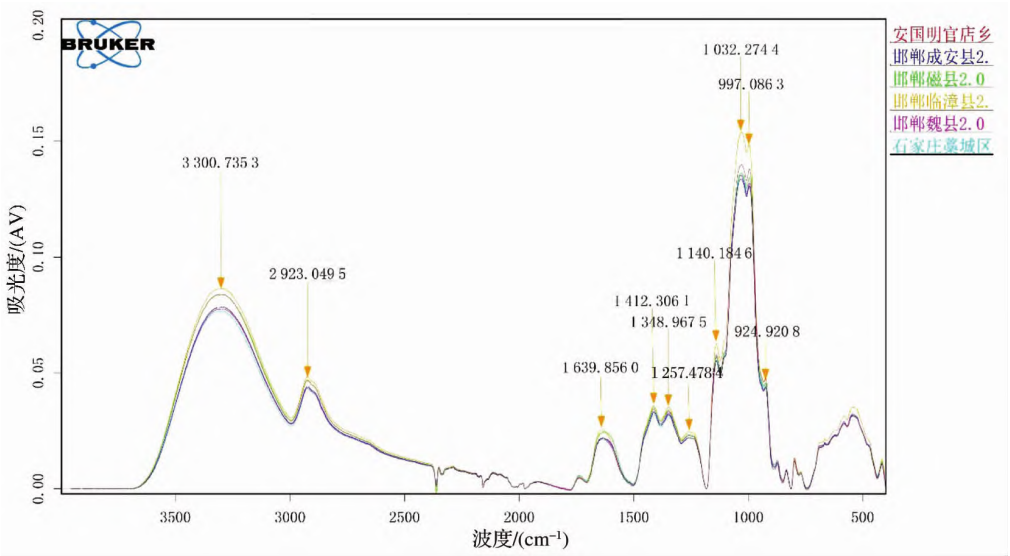


图 9　河北省内 6 个地区的红外吸收光谱

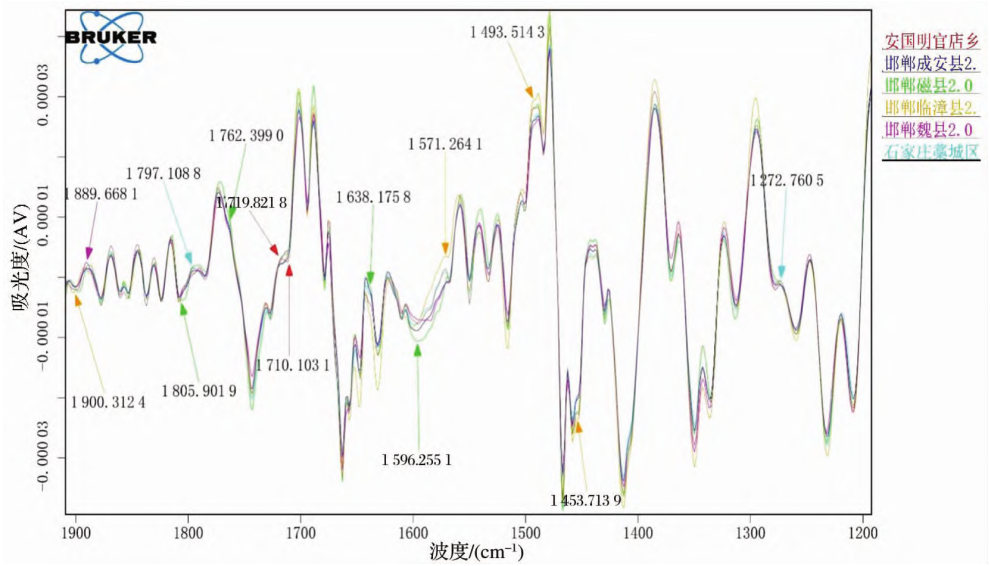


图 10　河北省内 3 个地区二阶红外光谱(1900 ~ 1200 cm^{-1})

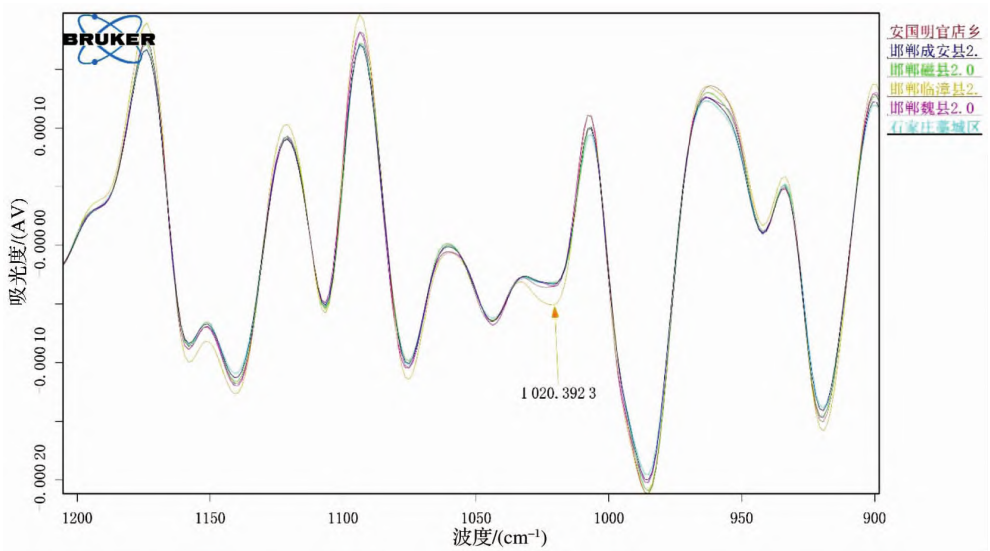


图 11　河北省内 3 个地区二阶红外光谱(1200 ~ 900 cm^{-1})

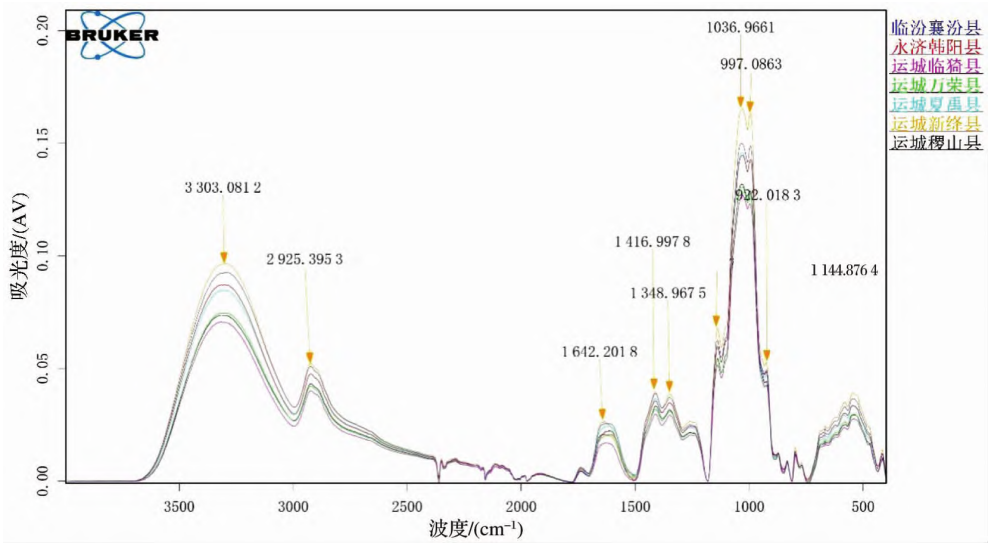


图 12　山西省内 3 个地区的红外吸收光谱

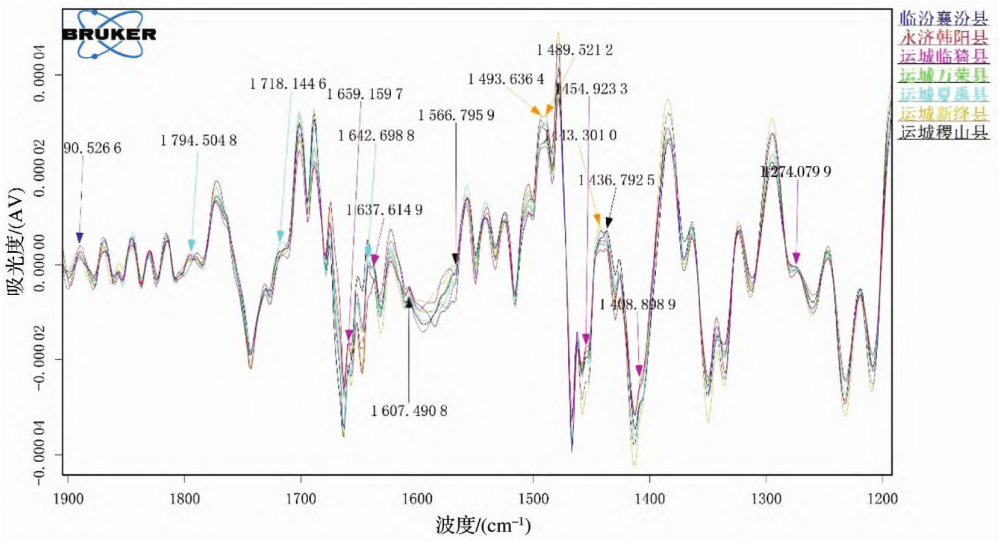


图 13　山西省内 3 个地区二阶红外光谱(1900 ~ 1200 cm^{-1})

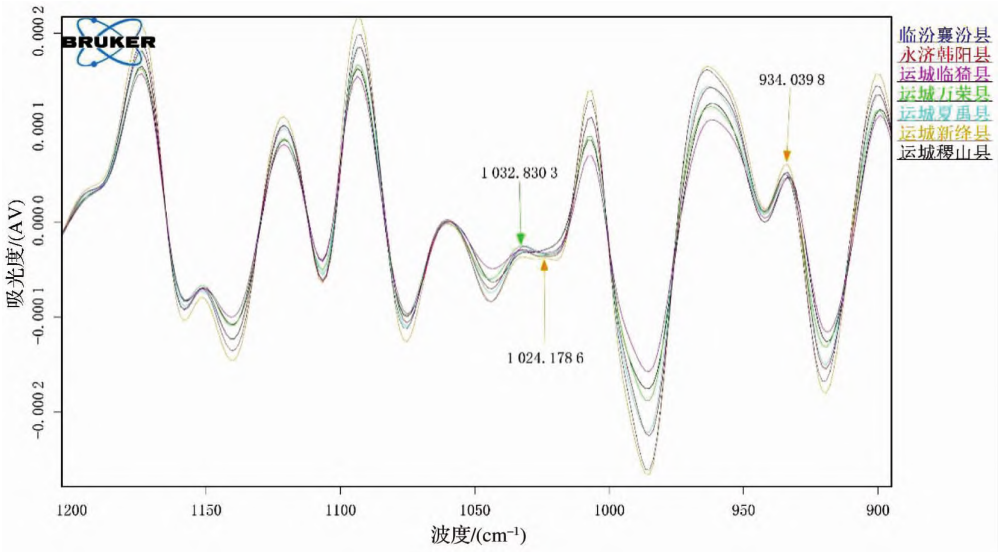


图 14　山西省内 3 个地区二阶红外光谱(1200 ~ 900 cm^{-1})

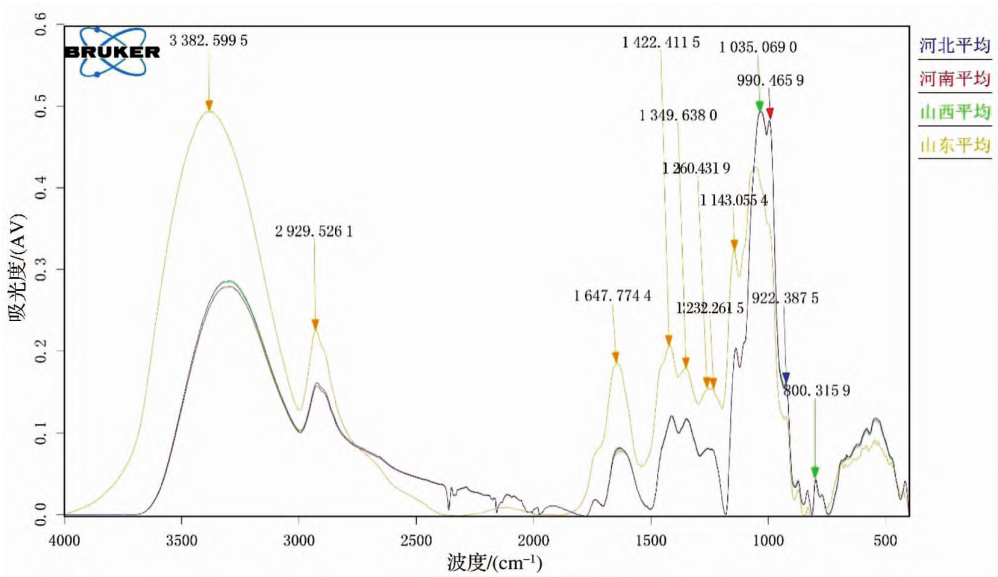


图 15　平均 4 个省的红外吸收光谱

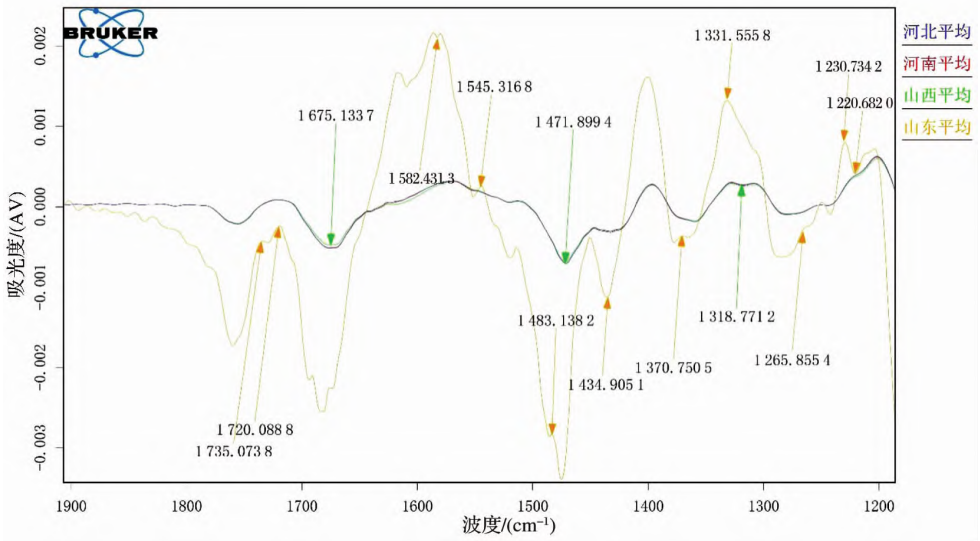


图 16　平均 4 个省的一阶红外吸收光谱(1900 ~ 1200 cm^{-1})

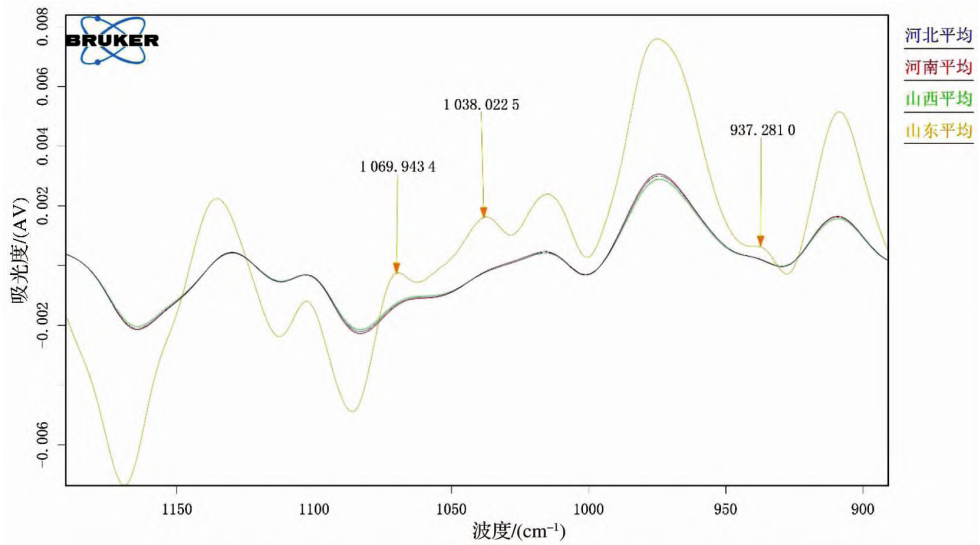


图 17　平均 4 个省的一阶红外吸收光谱(1200 ~ 900 cm^{-1})

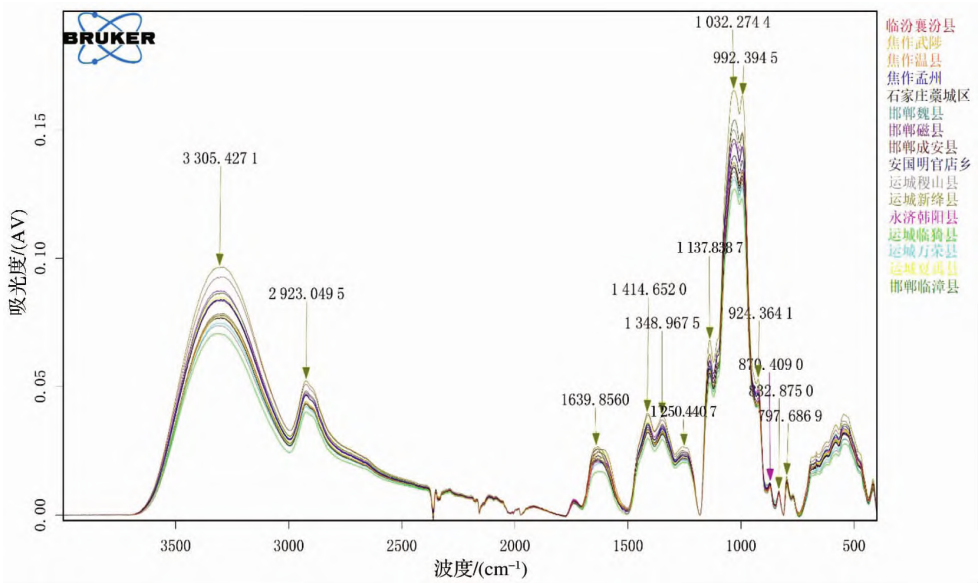


图 18　平均各省区的红外吸收光谱

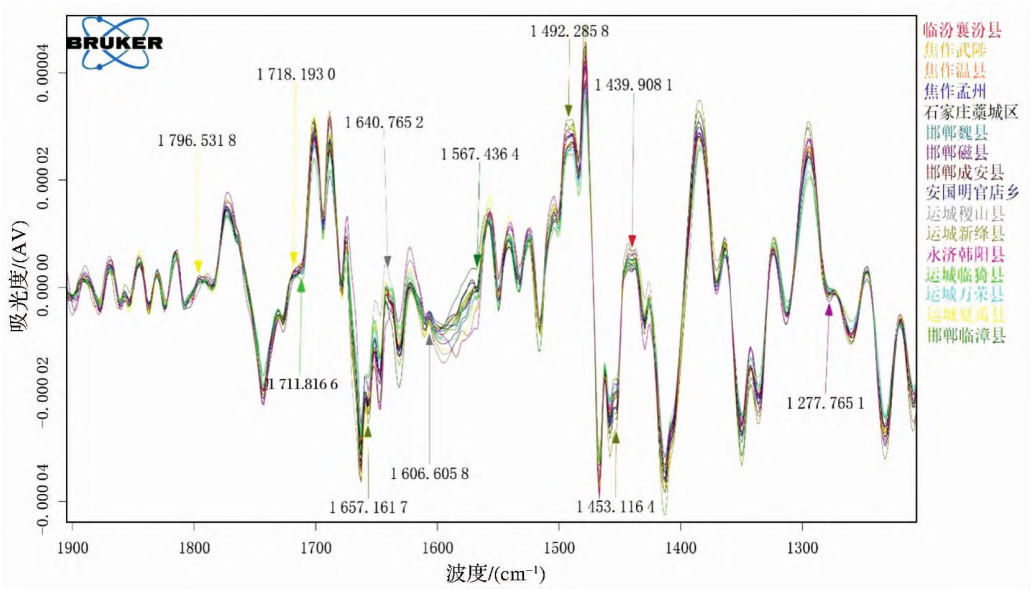


图 19　平均各县区的二阶红外吸收光谱(1900 ~ 1200 cm^{-1})

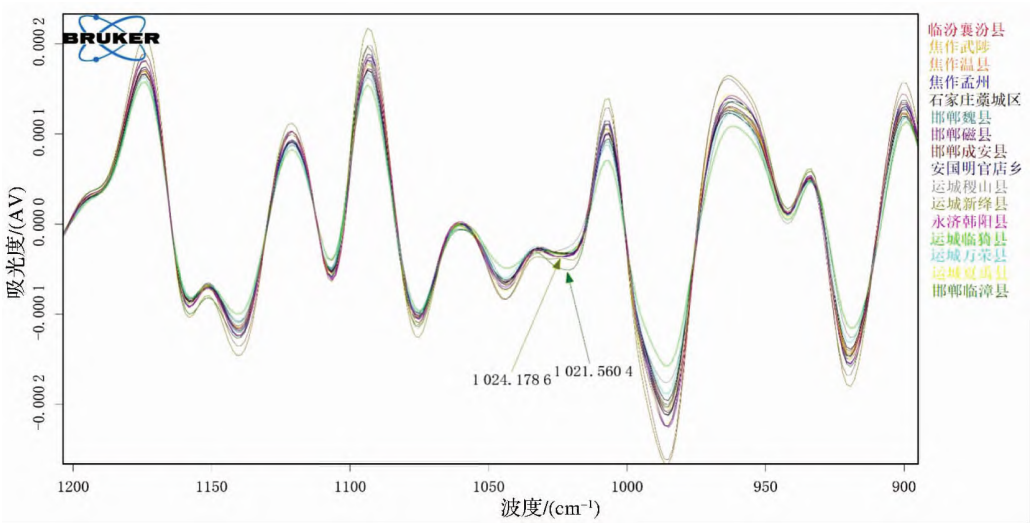


图 20　平均各县区的二阶红外吸收光谱(1200 ~ 900 cm^{-1})