DOI:10.13193/j.issn.1673-7717.2026.01.032

龙骨质量评价研究

王云云[1],孙媛[1],刘小辉[2],李赫宇[3],郑国华[1],李娟[1]
(1.湖北中医药大学药学院,湖北 武汉 430065;2.孝感市公共检验检测中心,湖北 孝感 432000;
3.天津益倍生物科技集团有限公司,天津 300201)

摘要:目的 为探索龙骨药材性状、理化特征、物相组成与元素含量之间的关联性,建立基于"辨状论质"理论的龙骨质量多维度科学评价体系。方法 通过查阅历代本草及现代文献等对龙骨品质评价特征的记载,整理和归纳出其品质评价要点。此外,收集龙骨样品36批,通过性状鉴定方法进行初步鉴别,利用X射线衍射荧光(XRD)技术分析物相组成,并且检测性状鉴别相关的理化指标,包括吸湿率、色差值和荧光等。同时,采用电感耦合等离子体发射光谱仪(ICP-OES)技术检测元素含量,通过统计分析和计量学方法研究龙骨性状特征与内在质量的相关性,并建立"性状指标-成分含量"预测模型。结果 龙骨药材质地、外观特征色泽、吸湿性和荧光等特征可作为龙骨真伪鉴别、质量优劣的指标。含量测定显示,龙骨Ca和P的含量较高,其次为Mg、Fe和Al。物相分析显示龙骨主要含氟磷灰石和方解石。色差值亮度(L)与Ca、P正相关,吸湿性与P、Sr含量正相关。龙骨合格品满足Ca和P的比例均大于2∶1,氟磷灰石≥30.0%,且Ca≥30.00%,P≥7.00%,L值≥35.00,吸湿率≥1.00%。结论 研究基于"辨状论质"建立龙骨元素和物相成分指标。同时建立"性状指标-成分含量"预测模型,经检验预测值与实际值相近,模型预测效果优良。基于传统"辨状论质"理论可较为准确地预测龙骨药材的质量,为龙骨药材质量标准的完善提供了科学基础。

关键词:龙骨;理化鉴别;物相分析;元素;模式识别;质量评价
中图分类号:R284.1 **文献标志码**:A **文章编号**:1673-7717(2026)01-0159-09

Study on Quality Evaluation of Longgu(Os Draconis)

WANG Yunyun[1],SUN Yuan[1],LIU Xiaohui[2],LI Heyu[3],ZHENG Guohua[1],LI Juan[1]
(1. College of Pharmacy,Hubei University of Chinese Medicine,Wuhan 430065,Hubei,China;
2. Xiaogan Public Inspection and Testing Center,Xiaogan 432000,Hubei,China;
3. Tianjin Yibei Biotechnology Group Co.,Ltd.,Tianjin 300201,China)

Abstract:*Objective* In order to explore the correlation between the traits,physical and chemical characteristics,phase composition and element content of Longgu(Os Draconis),a multi-dimensional scientific evaluation system of Longgu(Os Draconis) quality based on the theory of "differentiation of symptoms and quality" was established. *Methods* By consulting the records of the quality evaluation characteristics of Longgu(Os Draconis) in the past dynasties and modern literature,the key points of quality evaluation were sorted out and summarized. In addition,36 batches of Longgu(Os Draconis) samples were collected,and the preliminary identification was carried out by the character identification method. The phase composition was analyzed by XRD technology,and the physical and chemical indexes related to the character identification were detected,including moisture absorption rate,color difference and fluorescence. At the same time,ICP-OES technology was used to detect the contents of elements,and the correlation between the characteristics of Longgu(Os Draconis) traits and internal quality was studied by statistical analysis and metrology. The prediction model of "trait index-component content" was established. *Results* The texture,appearance characteristics,color,hygroscopicity and fluorescence of Longgu(Os Draconis) could be used as the indicators for the authenticity identification and quality of Longgu(Os Draconis). The contents of Ca and P in Longgu(Os Draconis) were higher,followed by the contents of Mg,Fe and Al. Phase analysis showed that Longgu(Os Draconis) mainly contained fluorapatite and calcite. The color difference brightness was positively correlated with Ca and P,and the hygroscopicity was positively correlated with P and Sr. The ratio of Ca and P in the genuine product was greater than 2∶1,and the content of fluorapatite was more than 30.0%,with Ca≥30.00%,P≥7.00%,L value≥35.00 and moisture absorption rate≥1.00%. *Conclusion* The prediction model of "trait

基金项目:国家中医药管理局高水平中医药重点学科建设项目(国中医药人教函〔2022〕226号);湖北省自然科学基金中医药创新发展联合基金项目(2024AFD342)

作者简介:王云云(1998-),女,安徽阜阳人,硕士在读,研究方向:中药资源及其品质评价。
通讯作者:李娟(1982-),女,湖南湘乡人,教授,博士研究生导师,博士,研究方向:中药资源及其品质评价。E-mail:lz198207@126.com。
孙媛(1984-),女,湖北天门人,助理研究员,博士,研究方向:中药资源及其品质评价。E-mail:421026730@qq.com。

index – component content" established in this study was tested to be close to the actual value, and the model prediction effect was excellent. Based on the traditional theory of "differentiation of symptoms and nature", the quality of Longgu (Os Draconis) can be accurately predicted, which provides a scientific basis for the improvement of the quality standard of Longgu (Os Draconis).

Keywords: Longgu (Os Draconis); phase analysis; hysicochemical identification; elements; pattern recognition; quality evaluation

龙骨为古代大型哺乳动物的骨骼化石或象类的门齿化石，主要化学成分为磷酸钙、碳酸钙，具有镇心安神、平肝潜阳等功效，临床用于心悸怔忡和失眠健忘等[1]。龙骨的临床应用广泛，龙牡壮骨颗粒和金锁固精丸等为临床常用中成药[2-4]。随着野生资源的减少和保护力度的加强，价格不断攀升，市购龙骨质量参差不齐[5]。目前，龙骨的质量标准依然沿用《中华人民共和国药典》(1977年版)，也有部分省级行政区增补了地方标准，检测方法包括性状鉴别和常规的理化鉴别等，但目前市场上龙骨的鉴别仍以"辨状论质"的经验鉴别为主。

"辨状论质"是中药材传统鉴定经验的总结，是一种快速辨别中药材品质的有效方法，依据药材外观性状，通过感官评价判断药材优劣，具有长期实践基础，在商品规格等级建立中具有重要指导意义[6]。目前，已有诸多研究将药材饮片外观性状指标作为判断其品质优劣的依据[7]。历代本草均有龙骨品质的记载，历代龙骨以质硬、色白、吸舌力强者为佳；五花龙骨以体较轻，质酥脆，分层，有蓝灰、红、棕等色的花纹，吸湿性强者为佳。断面无吸湿性、烧之发烟有异臭者不可供药用。

因而，本研究在对龙骨品质进行系统本草考证的基础上，对收集到的样品按照药典标准进行初步鉴别，通过X射线衍射荧光(XRD)技术进行物相组成分析并对其主要元素进行定量分析[8]，探索不同元素含量与药材性状、理化特征之间的关联性，建立龙骨质量的多维度科学评价体系。通过统计分析和计量学方法，寻找"质硬、色白、吸湿性强"的传统"辨状论质"特征与关键元素之间的相关性，同时建立龙骨"性状指标 – 元素含量"为龙骨"辨状论质"提供科学理论基础。

1 材料与方法

1.1 仪器

Optima 8000电感耦合等离子体发射光谱仪(ICP – OES)(东莞市景瀚实业有限公司)；Master 40微波消解仪(上海微波化学科技有限公司)；ZF1 – Ⅱ紫外分析仪(上海嘉鹏科技有限公司)；Bio – Tek Synergy2酶标仪(美国Gene公司)；SmartLab SE型XRD仪(日本理学公司)。

1.2 试剂

混合标准储备液100 μg/mL(Ca、Mg、Fe、Al、Cu、Zn、Mn、Sr、As、Cd、Pb、Cr、Hg、Se)购自国家有色金属及电子材料分析测试中心。盐酸、硝酸均为分析纯。水为超纯水。

1.3 样品信息

36批龙骨药材来源见表1，购自安徽亳州、河南禹州、河北安国、四川荷花池、广西玉林等药材市场，产地包括宁夏和内蒙古，少量为河南、四川等地，其中S9、S22样品由湖南中医药大学第一附属医院张志国教授馈赠。样品大多为生品，未对样品进行炮制处理。

2 实验方法

2.1 龙骨品质评价的本草考证

文献数据来源以"龙骨"为关键词，基于现有的如药智数据库、中国古籍文献知识库等中医古籍数据库与知识库进行文献检索，必要时查阅古籍原版内容进行资料收集与内容审校，并结合其他相关古籍资料和标准进行对比，纳入内容主要为龙骨的品质评价考证。

表1 龙骨样品信息

编号	产地	编号	产地
S1	河南	S19	河南
S2	宁夏	S20	宁夏
S3	宁夏	S21	宁夏
S4	河南	S22	宁夏
S5	广西	S23	宁夏
S6	四川	S24	陕西
S7	四川	S25	宁夏
S8	宁夏	S26	四川
S9	宁夏	S27	浙江
S10	内蒙古	S28	内蒙古
S11	陕西	S29	内蒙古
S12	四川	S30	内蒙古
S13	宁夏	S31	内蒙古
S14	内蒙古	S32	河北
S15	内蒙古	S33	浙江
S16	内蒙古	S34	河北
S17	陕西	S35	宁夏
S18	宁夏	S36	内蒙古

2.2 性状和理化鉴别

2.2.1 色差值测量 取龙骨药材粉末(过10号筛)，干燥后置于3nh色差仪中测定其色差值，用白板进行校准，以校准色差 $L_0 = 100$，测定并记录色差值亮度(L)。

2.2.2 吸湿性检测 依据2020年版《中华人民共和国药典》(9103药物引湿性试验指导原则)，测量样品24 h内的吸湿性。

2.2.3 荧光观察 在紫外365 nm下观察样品荧光情况，并拍照[9]。

2.3 物相分析

XRD光谱采集。将36批药材粉碎并过200目筛，取适量用玻璃板压平于样品板的凹槽中，关闭主机盖，10 s后进行测量。角度范围3°～65°，X管电压40 kV，管电流50 mA，步长0.01，扫描速率10°·min^{-1}。然后，将XRD原始图谱导入MDI JADE 6.5软件，利用JADE 6.5数字信号处理技术对样品的图谱进行寻峰，所得XRD数据与国际粉末衍射数据中心JCPDS标准卡片匹配，确定各样品的物相组成。

2.4 元素测量

2.4.1 分光光度法测定P含量 采用分光光度计法测定[10]。

(1)标准品配置：分别用移液管准确移取磷酸盐标准液0、1.0、3.0、5.0、10、15 mL，加水至20 mL。

(2)供试品配置：用移液管取100 μL样品溶液，加水稀释

至 20 mL。将供试品和对照品溶液分别加入 400 μL 10% 抗坏血酸溶液混匀,30 s 后加入 800 μL 钼酸盐溶液充分混匀。放置 15 min 后,于 700 nm 波长下,测量吸光度

2.4.2 ICP – OES 测定无机元素含量 使用 ICP – OES 测量 Ca、Mg、Fe、Al、Cu、Zn、Mn、Sr、As、Cd、Pb、Cr、Hg、Se 等 14 种元素。

(1)标准溶液:分别精密量取 Rh 标准溶液 0.5 mL 于 50 mL 容量瓶中,用硝酸定容到 50 mL,得到质量浓度为 10 mg/L 的混合内标储备液;将内标储备溶液用硝酸稀释 10 倍,得到混合内标使用液。

(2)供试品溶液的制备:精密称取药材粉末 0.2 g,置于消解罐中,加入硝酸,将消解罐放入微波消解仪中,按照如下程序消解:以 10 L/min,0 ~ 120 ℃(800 W)维持 10 min,120 ~ 150 ℃维持 15 min,150 ~ 190 ℃维持 25 min。待消解完成后取出赶酸,然后冷却转移至 50 mL 量瓶中,加水混匀,稀释 10 倍后得到供试品溶液。

(3)ICP – OES 测定条件:功率 1300 W,等离子气体流量 10 L/min,进样速率 1.0 mL/min,分析泵稳定时间 30 s,助气体流量 0.2 L/min;雾化器气体流量 0.7 L/min。

2.5 数据分析

使用 SPSS 14.0、SIMCA14.1 和 Origin Pro 2022 软件对样品性状指标和元素含量进行分析并作图[11-12]。

2.6 性状指标—成分含量预测模型建立

利用 SPSS 14.0 软件,随机选取 15 个样本作为训练样本,8 个样本作为测试样本,以色差值 L,吸湿率分别为 X_1、X_2,Ca、P、Sr 3 种化学成分的含量为因变量 $Y_1 \sim Y_3$,运用逐步回归法建立多元线性回归方程,分析其统计学意义,剔除不显著变量,优化方程;将测试样本的气味值、吸湿性输入方程,输出成分含量的预测值,将预测值与实际值进行拟合误差检验,验证模型的预测效果。

3 结果

3.1 龙骨品质评价考证

龙骨的品质评价首载于魏晋《吴普本草》[13]:“色青白者善”。南北朝时期《雷公炮炙论》曰:“骨五色者上,白色者中,黑色者次,黄色者稍得”。《本草经集注》曰:“作白地锦文,舐之着舌者,良”[14],谓其有吸舌力者较佳。唐代《新修本草》描述为:“生硬者不好,五色具者良”[15]。同期《证类本草》曰:“剡州生者,仓州、太原者上。其骨细文广者是雌,骨粗文狭者是雄。骨五色者上”[16]。宋代《本草图经》曰:“或云是龙蜕,实非死骨,得脊脑,作白地锦文,舐之着舌者良……凡入药,五色具者,尤佳,黄白色者次,黑色者下,皆不得经落不净处,则不堪用”[17]。明代《本草乘雅半偈》曰:“五色具者上,白、黄色者中,纯黑者下矣”[18]。清代《本草崇原》曰:“入药取五色具而白地粹纹,其质轻虚,舐之粘舌者为佳。黄白色者次之,黑色者下也”[19]。

近现代,1963 年版《中华人民共和国药典》记载:“五花龙骨以质脆,分层,有蓝灰、红、棕等色的花纹,吸湿力强者为佳。龙骨以质硬、色白、吸湿力强者为佳。以上两类,五花龙骨较一般龙骨为优”[20]。1977 年版《中华人民共和国药典》记载:“龙骨以质硬、色白、吸湿性强者为佳。五花龙骨以体较轻、质酥脆、分层、有花纹、吸湿性强者为佳。断面无吸湿性、烧之发烟有异臭者不可供药用”[21]。《中国药材学》记载:“五花龙骨以色白、有各种花纹、松透易碎、舐之粘舌者为佳。土龙骨质坚硬、不易破碎,一般认为质比较次”[22]。《中华本草》《中药大辞典》和《500 味常用中药材的经验鉴别》[23-25]等与《中华人民共和国药典》记载基本一致:五花龙骨又名青化龙骨、花龙骨。以质脆、分层、有五色花纹、吸湿力强者为佳。龙骨又名白龙骨(《千金要方》)、土龙骨,以质硬、色白、吸湿力强者为佳。但一般以五花龙骨为优,但产量甚少,药用仍以土龙骨为主。

综上可知,古代龙骨的品质评价主要体现在颜色、质地及粘舌性三方面。现代,龙骨以质硬、色白、吸湿性强者为佳;五花龙骨以体较轻,质酥脆,分层,有蓝灰、红、棕等色的花纹,吸湿性强者为佳。断面无吸湿性、烧之发烟有异臭者不可供药用。

3.2 龙骨药材鉴定结果及分析

详细结果见表 2。实验结果显示,根据质地、断面以及火试情况,可以初步地判定龙骨药材是否合格(S1 ~ S23 符合规定),但依然存在一定的不确定性,如杂质过多、伴生矿石的干扰、野外环境的差异等,都会干扰颜色、味道的判断。

从表 2 中可以看出,补充的检测方法(如亮度、吸湿率、荧光颜色等)和样品合格与否的判定上存在一些关联性的规律:如检测合格的样品(S1 ~ S23),吸湿率基本上都高于 1.00%,这与样品的多孔网状结构直接相关,也符合药材的形成机制是来自古动物化石。亮度 L 的检测结果,主要反映了药材的色泽,与龙骨药材来源于骨骼化石符合,颜色偏深表明杂质干扰过多或不属于化石类(S27)。龙骨是由古生物骨骼形成的化石,主要成分是磷酸钙和羟基磷酸钙,在自然界形成过程中,其荧光特征较为明显,在紫外线的照射下,会产生特点明显的蓝紫色荧光(S1 ~ S23),如其他类型的化石、普通的石头等,在荧光特征上会存在差异,抑或是不产生荧光(S24 ~ S28,S29 ~ S36)。其次,如果龙骨样品中其他伴生矿物较多,或杂质较多,荧光特征也会减弱或存在差异,火试时发烟发臭或有爆鸣声(S24、S25、S34、S36)。在后续的元素分析中,将进一步探索元素含量与样品特征的关联性。

对比所有样品的检测结果,可以发现,单一项目评价样品的真伪特征存在一定的缺陷,部分样品会存在疑似或难以判定的情况。根据已有样品的统计学经验,可以采用综合判断的方法,如吸湿率大于 1.00%、亮度(L)大于 35.00,紫外灯下显蓝紫色荧光,而且也满足《中华人民共和国药典》中的龙骨药材的性状描述,对于同时具备以上特征的样品,定义为合格品,不能同时满足以上条件的样品,样品的内在形态和合格龙骨之间会存在较大差异,可以作为区分合格与否的重要依据。

3.3 样品物相分析结果

对市售 36 批样品进行 XRD 图谱解析,对比分析发现,合格样品图谱与氟磷灰石 PDF99 – 0050(fluoreapatite) 及方解石 PDF99 – 0022(calcite) 基本一 致,样品 S1 ~ S23 主要物相组成为氟磷灰石,这 23 批样品中除 S3、S4、S5、S7、S10、S21、S2 7 个样品不含方解石,其余样品或多或少均含有方解石成分,这应为龙骨钙化或在长期的地下埋藏过程中其他岩石(如方解石)嵌入龙骨所导致。此外,有研究报道,龙骨关节处样品并未检测出方解石,因此推测样品中含有方解石与龙骨的不同部位有关[26]。

对 S24 ~ S36 进行 XRD 图谱分析发现,S25、S30、S31、S32

表 2 龙骨的性状指标检测

编号	药典方法			物相分析		补充研究			是否合格
	质地	断面	火试	物相组成	相对含量/(%)	亮度(L)	吸湿率/(%)	荧光效应	
S1	硬	黄白青	无烟无臭	氟磷灰石、方解石	67.5、32.5	46.34	1.62	蓝紫色	是
S2	硬	黄白青	无烟无臭	氟磷灰石、方解石、石英	66.2、17.7、16.1	39.31	1.47	蓝紫色	是
S3	硬	白色	无烟无臭	氟磷灰石、石英	92.3、7.7	48.83	1.79	蓝紫色	是
S4	硬	白色	无烟无臭	氟磷灰石、石英	84.5、15.5	52.14	1.21	蓝紫色	是
S5	硬	黄白色	无烟无臭	氟磷灰石	100	45.57	1.07	蓝紫色	是
S6	硬	白色	无烟无臭	氟磷灰石、方解石、	45.7、54.3	48.64	1.10	蓝紫色	是
S7	硬	白青	无烟无臭	氟磷灰石	100	44.49	1.53	蓝紫色	是
S8	硬	白	无烟无臭	氟磷灰石、方解石、	78.2、21.8	49.46	1.60	蓝紫色	是
S9	硬	黄白	无烟无臭	氟磷灰石、方解石、石英	58.3、24.4、17.1	35.38	1.14	蓝紫色	是
S10	硬	白	无烟无臭	氟磷灰石、石英	92.1、7.9	45.88	1.59	蓝紫色	是
S11	硬	白	略变灰	氟磷灰石、方解石、	59.4、60.6	49.67	1.09	蓝紫色	是
S12	硬	白	无烟无臭	氟磷灰石、方解石、石英	61.9、30.8、7.2	48.59	1.36	蓝紫色	是
S13	硬	白	无烟无臭	氟磷灰石、方解石、石英	49.8、43.6、6.6	48.55	1.19	蓝紫色	是
S14	硬	黄白	无烟无臭	氟磷灰石、方解石、	70.2、29.8	41.38	1.09	蓝紫色	是
S15	硬	白	无烟无臭	氟磷灰石、方解石、石英	43.2、51.5、5.3	47.37	1.21	蓝紫色	是
S16	硬	青白	无烟无臭	氟磷灰石、方解石	55.7、40.3	47.94	1.21	蓝紫色	是
S17	硬	白	无烟无臭	氟磷灰石、方解石	47.4、52.6	52.63	1.26	蓝紫色	是
S18	硬	黄	烧面发红	氟磷灰石、方解石	77.3、22.7	37.57	1.35	蓝紫色	是
S19	硬	白	无烟无臭	氟磷灰石、方解石	58.1、41.9	51.87	1.34	蓝紫色	是
S20	硬	黄白	无烟无臭	氟磷灰石、方解石、石英	36.5、40.4、23.1	40.34	1.00	蓝紫色	是
S21	硬	白	无烟无臭	氟磷灰石、石英	90.9、9.1	50.42	1.40	蓝紫色	是
S22	硬	青白	无烟无臭	氟磷灰石	100	40.58	1.30	蓝紫色	是
S23	硬	白	无烟无臭	氟磷灰石、方解石、石英	42.5、51.7、5.8	49.67	1.09	蓝紫色	是
S24	硬	白	发烟发臭	氟磷灰石	100	47.39	1.46	白光	否
S25	脆	白	有爆鸣声	氟磷灰石、硫	90.5、9.5	45.48	0.47	暗色	否
S26	脆	白	无烟无臭	氟磷灰石	100	49.20	1.14	暗色	否
S27	脆	黄	发红	石英	100	30.58	1.50	暗色	否
S28	硬	黄白	无烟无臭	氟磷灰石、方解石、石英	43.7、19.8、36.5	37.16	0.68	暗色	否
S29	脆	白	无烟无臭	氟磷灰石、方解石、硫	44.7、40.3、15	46.13	1.20	蓝紫色	否
S30	脆	白	无烟无臭	氟磷灰石、白云石	86.8、13.2	51.13	0.05	暗色	否
S31	脆	白	无烟无臭	氟磷灰石、方解石、石英	88.5、6.7、4.7	48.69	0.29	暗色	否
S32	脆	白	无烟无臭	氟磷灰石	100	52.55	0.03	暗色	否
S33	硬	黄白	无烟无臭	氟磷灰石、方解石、石英	24.3、52.8、22.9	40.45	0.77	暗色	否
S34	硬	白	烧后发烟	氟磷灰石、方解石、硫	40.8、49.2、10	47.01	1.32	白光	否
S35	脆	黄白	无烟无臭	方解石、石英	64.2、35.8	48.20	0.98	暗色	否
S36	硬	青黄	发黄	氟磷灰石、方解石、石英	26.8、70.1、3.1	46.21	0.48	白光	否

在 2θ 为 30°~35°含有氟磷灰石，但对比发现峰形尖锐，峰宽较窄，合格样品 XRD 图谱在 30°~35°呈波浪形下降，结晶性与合格样品相比更好。同时 S25 中分析出 S 元素；S30 中分析出白云石等杂质，推测为其他矿物冒充；S24、S26 物相分析为磷灰石，且无方解石，但峰形较尖锐，底部峰宽度较窄，与文献报道的煅龙骨 XRD 图谱一致[26]，推测其可能为煅龙骨或龙骨伪品；S27 为石英；S28 石英含量过多，超 30%；S33、S36 氟磷灰石含量过少，小于 30%；S35 不含磷灰石；S29、S34 中含有部分硫元素，判定为伪品。

综上所述，合格样品物相成分含有氟磷灰石和方解石，部分样品可能因其来源部位只含氟磷灰石，XRD 特征图谱在 30°~35°呈波浪形特征图谱（插页Ⅻ图 1A、B、C），在 29.5°有方解石型碳酸钙的特征峰。伪品峰形尖锐，峰宽较窄，部分不合格品中含有其他成分，峰形较合格品有较大差异（插页Ⅻ图 1D）。

3.4 龙骨药材主要元素含量检测

按照标准规定的测定方法，对所有样品中的 15 种元素进行定量分析，线性方程见表 3，含量结果见表 4，其中 Hg 和 Se 未检测出（以下分析中除去）。从元素的检测结果可以看出，Ca 和 P 元素的占比较大，其次为 Mg、Fe 和 Al，其他微量元素的分布具有一定的随机性。

4 数据分析

4.1 龙骨药材合格品与不合格品间的元素分布及分析

以元素种类为横坐标，元素含量的平均值为纵坐标，分别得到合格样品与不合格样品的元素分布曲线图（见插页Ⅻ图 2）。结合样品的综合判定结果（合格品、不合格品）看，可以得到以下关联性的结论：第一，判定为合格品的龙骨中，Ca、P、Mn 和 Sr 含量相对高于不合格品。Ca、P 的元素含量占比较大，Ca 元素含量均超过 30.00%（S27 等伪品 <30.00%），P 元素的含量均超过 7.00%，Ca 和 P 的比值均 >2（S25 等伪品 <2）。这

个结果和龙骨的来源相对应，因为动物的骨骼化石中 Ca 和 P 的含量都较高，从物相分析看，自然形成的龙骨化石中主要含磷酸钙成分。而 Sr 同位素分析常用于地质学、考古学等科学领域中，可用于岩石和矿物形成年代的检测，因而 Sr 元素含量高低可作为龙骨样品品质评价的关键检测指标。第二，判定为不合格的部分样品中 P 元素含量较高，也可能是因为以新鲜兽骨冒充龙骨或样品中混入了磷灰石等其他成分。第三，合格龙骨中 Mg、Fe、Al、Cu、Zn、As、Pb 和 Cr 等元素的含量小于不合格品，可以考虑作为重金属检查的限制性指标，以供临床安全用药参考。

4.2 主成分分析（PCA）

将 36 批次不同质量龙骨 13 种元素含量为变量，以主成分特征值 >1 为提取标准，得到 4 个主成分（表 5），4 个主成分的累积方差贡献率为 75.887%，说明 4 个主成分在反映不同质量龙骨样品共有成分关系中起主导作用。因子载荷矩阵显示（表 6）Fe、Mn、As、Cr、Ca、Al 在主成分 1 上载荷较高；Zn、Cu、Cd、Pb 在主成分 2 上载荷较高；Mg、Sr 在主成分 3 上载荷较

表 3 15 种元素的线性回归方程

元素	回归方程	r	线性范围/(mg·L^{-1})
Ca	Y = 83 000X + 0.131 5	0.995 8	0 ~ 5.0
Mg	Y = 5 683 000X − 0.133 1	0.999 2	0 ~ 5.0
Fe	Y = 313 500X + 11 553.9	0.999 8	0 ~ 5.0
Al	Y = 286 200X + 5 340.7	0.999 8	0 ~ 5.0
Cu	Y = 352 300X − 3 185.5	0.999 8	0 ~ 5.0
Zn	Y = 130 300X + 6 403.0	0.999 6	0 ~ 5.0
Mn	Y = 2 114 000X − 22 236.6	0.999 9	0 ~ 5.0
Sr	Y = 848 900X + 10 947.8	0.999 6	0 ~ 5.0
As	Y = 1776X + 143.2	0.999 8	0 ~ 5.0
Cd	Y = 173 000X − 2 739.0	0.999 9	0 ~ 5.0
Pb	Y = 10 590X − 155.0	0.999 9	0 ~ 5.0
Cr	Y = 423 500X + 34 225.3	0.999 5	0 ~ 5.0
Hg	Y = 6865X − 17.4	0.999 9	0 ~ 5.0
Se	Y = 2101X − 66.4	0.999 7	0 ~ 5.0
P	Y = 4.258 9X − 0.333 2	0.998 4	0 ~ 2.5

表 4 龙骨样品中 13 种元素的含量 单位：μg·g^{-1}

编号	是否合格	P	Ca	Mg	Fe	Al	Cu	Zn	Mn	Sr	As	Cd	Pb	Cr
S1	是	137 194	408 236	935	606	1 088	6	283	394	291	9	1	7	6
S2	是	133 686	533 441	4935	2299	4625	72	69	6	2103	8	6	20	19
S3	是	209 860	612 157	3657	1276	3070	–	–	–	1761	–	1	12	25
S4	是	152 354	843 673	9438	253	801	–	14	–	2072	9	1	11	10
S5	是	136 760	336 793	1515	1329	955	10	–	244	1012	5	–	–	88
S6	是	154 586	515 976	1740	737	370	60	98	149	2335	19	–	10	13
S7	是	72 110	374 061	2310	6773	4559	105	22	642	4013	22	–	35	35
S8	是	139 002	471 404	2587	1707	1647	182	65	238	1750	9	4	26	30
S9	是	93 290	381 442	1247	697	171	1491	721	1203	1461	29	5	93	29
S10	是	171 907	627 092	2219	7634	1841	72	48	–	231	–	–	–	82
S11	是	80 385	611 808	2517	1838	1207	81	74	–	613	–	–	–	100
S12	是	81 988	611 611	3663	3052	3764	26	38	–	1139	–	–	–	102
S13	是	138 492	628 215	2039	1691	1732	72	72	–	340	–	–	–	83
S14	是	154 977	625 842	2854	2117	2744	556	375	–	930	–	–	19	77
S15	是	124 657	582 028	4406	3937	3652	177	128	–	1665	–	–	22	25
S16	是	101 103	602 987	3404	3754	4481	71	59	–	283	–	–	–	90
S17	是	146 315	632 000	1820	628	380	48	32	–	412	–	–	–	110
S18	是	134 273	380 066	6826	28 825	1264	–	38	478	3765	115	3	3	185
S19	是	181 600	414 123	191	343	1109	–	–	–	467	6	–	–	–
S20	是	96 567	312 405	4428	12 832	11 286	10	–	244	666	15	–	10	86
S21	是	147 927	398 396	7701	2854	2888	294	130	33	1842	7	3	37	74
S22	是	117 525	462 420	1214	710	1237	202	41	3666	3731	0	5	105	64
S23	是	170 215	395 107	2783	470	1441	0	1	0	1859	3	6	14	13
S24	否	147 521	341 874	5305	733	1118	71	183	0	308	0	1	10	6
S25	否	134 273	334 914	7674	1781	2828	208	336	0	411	0	1	18	9
S26	否	112 497	416 333	5721	981	1897	19	57	–	1425	4	2	10	11
S27	否	95 444	112 155	8034	157 627	18 276	358	165	2087	1153	751	–	68	489
S28	否	49 593	337 738	7900	28 371	21 415	45	8	486	843	12	4	12	85
S29	否	16 789	355 852	2773	4488	3866	754	307	81	991	4	4	29	51
S30	否	60 755	507 407	2252	2456	2367	859	382	56	1067	22	7	82	67
S31	否	122 999	492 064	7923	3206	1530	639	423	40	432	–	9	31	27
S32	否	200 014	529 708	9763	2563	750	1229	735	25	448	91	10	116	71
S33	否	215 045	404 897	12 186	11 727	11 830	172	133	–	34	–	–	–	125
S34	否	36 172	590 036	4662	4840	3402	192	185	–	1196	356	–	133	62
S35	否	94 630	444 950	8692	12 334	12 711	133	91	–	–	–	–	–	101
S36	否	59 975	628 883	3325	2951	2280	130	105	–	332	–	–	–	79

注：– 表示未检出。

表5 特征值及方差贡献率

主成分因子	特征值	方差贡献率/(%)	累积方差贡献率/(%)
1	3.980	30.617	30.617
2	3.009	23.143	53.760
3	1.758	13.520	67.280
4	1.119	8.607	75.887

表6 龙骨样品主成分载荷矩阵

成分	主成分1	主成分2	主成分3	主成分4
P	-0.298	-0.053	0.216	0.735
Ca	-0.614	0.029	0.026	-0.076
Mg	0.354	-0.034	0.613	0.495
Fe	0.915	-0.280	0.048	0.031
Al	0.654	-0.400	0.303	-0.018
Cu	0.258	0.882	0.204	-0.148
Zn	0.173	0.860	0.346	-0.122
Mn	0.570	0.152	-0.622	0.143
Sr	0.089	0.081	-0.794	0.398
As	0.872	-0.094	-0.027	-0.072
Cd	0.087	0.771	0.042	0.323
Pb	0.458	0.724	-0.231	-0.034

高;P在主成分4上载荷较高。

4.3 正交偏最小二乘法-判别分析(OPLS-DA)

将样品中的13种元素成分含量进行无监督模式的OPLS-DA,合格龙骨样品作为一组,不合格样品作为一组,筛选合格和不合格龙骨的差异标志物。结果如插页XXⅢ图3所示。

OPLS-DA得分图表明合格与不合格样品可区分开,质量参数R^2X为0.991,R^2Y为0.67,Q^2为0.528。并对模型进行验证,设定检验数为200次,如插页XXⅢ图3B所示,左边的R^2点和Q^2点均低于右边,Q^2点的回归线与纵轴相交于原点以下,表明未产生过分拟合,模型可靠。

根据模型验证的情况,选择VIP值大于1作为筛选条件,见插页XXⅢ图3C。可以确定Ca、P、Fe 3个元素的含量,是区分样品真伪特征的关键指标。这个和龙骨的来源相对应,进一步验证了龙骨样品的主要物相形态为含Ca和含P的化石类成分。

4.4 龙骨性状与内在质量相关性分析

对合格样品S1~S23样品的理化特征和元素之间进行皮尔逊(Pearson)相关性分析,结果如插页XXⅢ图4所示。从皮尔逊相关分析结果看出,元素含量与外观性状(吸湿性、色差值的亮度L)密切相关。

首先,色差值亮度(L)与Ca、P正相关,与Fe、Cu、Zn、Mn、As、Pb显著性负相关($P<0.01$);说明Ca元素的含量,是样品外观颜色的重要表征,钙盐类一般颜色偏白偏亮,会导致样品的整体色泽偏亮,而Fe、Mn元素等形成的化合物成分,颜色偏红或较深,也是导致样品色泽暗淡、颜色较深的主要因素。

其次,从物理的角度看,吸湿性主要与样品的多孔特征存在关联,但其内在的形成因素,从相关性分析结果看,与P、Sr含量正相关,与Cu、Zn含量负相关,但无显著性。主要原因在于样品多孔性特征的形成,会受一些外在成分的干扰,如Sr元素会替代矿物中的Ca离子,影响羟基磷灰石的形成,从而促进多孔结构的形成;Cu的含量会导致样品化石形成的更为致密,抑或是影响了多孔结构的形成。

再次,不同元素之间也存在一定的关联性结果,如Ca元素与Fe、Mn、As负相关,但无显著性。表明Ca元素具有一定的相对独立性,对于龙骨样品而言,Ca元素更多的是来自样品本身,和周围伴生矿存在较为明显的界限。Fe含量和As、Cr显著性正相关($P<0.05$),表明杂质类成分更多是周围自然矿床的特征,各类元素的含量有一定的相对比例关系。

5 主要元素预测模型建立和验证

以Ca为因变量Y1、P含量为因变量Y2、Sr含量为因变量Y3;色差值L为自变量X1,吸湿率为自变量X2,对15个训练样本采用逐步回归法建立多元线性回归方程,得到色差值和吸湿率对Ca含量的预测方程:Y1 = -65 228.471 + 15 405.027X1 - 75 369.429X2;P含量的预测方程:Y2 = -2 291.562 + 1 521.456X1 + 48 025.040X2;Sr含量的预测模方程:Y3 = 1 543.691 - 19.363X1 + 595.833X2,并对该方程和系数进行显著性检验。结果见表7。

表7 3种元素预测模型的显著性检测

化学成分	方差分析		系数		
	F值	P值	a	b	常量
Ca	2.169	<0.05	15 405.027	-75 369.429	-65 228.471
P	0.984	<0.05	23.143	48 025.040	-2 291.562
Sr	0.159	<0.05	-19.363	595.833	1 543.691

采用已建立的"性状指标-成分含量"预测模型,输入8个测试样本的L及吸湿率值,得到3种成分的预测值,将预测值与实际值进行拟合误差检验。结果见插页XXⅢ图5。误差较小,说明Ca、P、Sr预测值和实际值的拟合度较高,该模型可在一定范围内较准确地预测3种元素的含量。

6 讨论

基于传统"辨状论质"理论基础上,结合龙骨的品质"质硬、色白、吸湿性强"等特点,选择"密度、色差、吸湿率"[27]等指标作为龙骨药材测定的外观性状量化指标,同时根据龙骨为骨骼形成的化石荧光特征明显[28],增加蓝紫色荧光的检识作为真伪判断依据。研究结果显示,龙骨药材外观特征色泽、吸湿性和荧光等,可作为龙骨真伪鉴别指标。而龙骨样品质地、密度与元素成分含量不具有明显的相关性,这与骨骼样品不同部位密度不均匀有一定的关系。

物相分析结果显示生龙骨中主要含磷灰石和方解石型碳酸钙,来自关节处龙骨与龙骨煅制品可能只含有氟磷灰石但结合其峰型可较好地区分[26]。磷灰石是人体和动物骨骼的重要组成成分,其具有较好的生物降解能力和骨传导力[29],因其具有较高比率表面积,具有良好的吸湿性,是龙骨发挥强筋壮骨等作用的重要成分之一。同时,石英是龙骨中的杂质成分,本研究中龙骨样品的石英相对含量均在30%以下,后续将进一步考虑石英的限量范围。

《甘肃省中药材标准》(2009年版)记载:"龙骨中碳酸钙含量不得少于20%",《山东省中药饮片炮制规范》(2012年版)规定"碳酸钙含量不得少于60%"。现有标准对龙骨质量评价标准不一。本研究将龙骨样品外观性状指标结合物相分析并与其元素指标成分进行整合分析,发现色差值亮度(L)与Ca、P正相关,龙骨颜色越白,有效成分磷酸钙、碳酸钙含量越高,与本草考证结果一致,即龙骨色白者较佳。同时,龙骨样品

吸湿度主要与样品的磷灰石含量和样品多孔特征存在关联，与 P、Sr 含量正相关，与 Fe、Zn 等元素负相关，可能与其会导致样品化石形成更为致密、影响多孔结构的形成有关[21]。

Ca、P、Mg、Fe、Al、Zn、Mn 是龙骨主要活性成分，可发挥抗惊厥和镇静等多种药理作用。Ca 能够促使血液凝固，并减轻骨骼肌的兴奋性，Mg 可以调节神经肌肉的兴奋性，P 参与细胞的能量代谢过程[30-31]。近年研究表明，PO_4^{3-} 和 CO_3^{2-} 离子缓释特性可能增强龙骨的镇静作用，具有平肝潜阳的功效[32]。本研究结果表明 Ca 和 P 的含量较高，其次为 Mg、Fe 和 Al，且合格品中 Ca 和 P 的比例均大于 2∶1，主要成分为磷灰石和方解石，与前期报道一致[33]。Sr 元素可影响矿物形成，与吸湿性呈正相关，并且与龙骨年代也具有一定的关系，可作为龙骨品质评价的关键指标[25-26]。目前关于矿物药重金属限度存在争议，缺少明确的标准。本研究的龙骨合格品中 Mg、Fe、Al、Cu、Zn、As、Pb 和 Cr 的含量相对低于不合格品，可以考虑作为重金属检查的限制性指标。矿物药成分十分复杂，且由于产地、气候不同，不同批次的中药材质量差异相对较大[34]。元素之间，抑或也存在一定的关联性，与周围自然矿床的特征、各类元素的含量有一定的相对比例有关。本研究所建立的龙骨“性状指标－成分含量”预测模型，经检验预测值与实际值相近，模型预测效果优良，但预测方程所含变量较多，后续研究可增大样本量，精简优化模型，建立更为简便的预测模型。因此，综合龙骨性状与元素含量测定结果，结合其镇心安神、平肝潜阳等药理作用，建议将 Ca、P、Mg、Fe、Al、Zn、Mn 列为龙骨的主要活性成分，氟磷灰石和方解石为龙骨的主要矿物组成；元素含量 Ca、P 比值≥2∶1；Ca≥30.00%，P≥7.00%；L 值≥35.00，吸湿率≥1.00% 作为龙骨质量评价指标。建立的龙骨“性状指标－成分含量”预测模型，可用于龙骨主要元素的含量预测。

参考文献

[1] AN Y Q, LIU Z L, WANG S Y, et al. Effect of Chaihu plus Longgu Muli decoction plus five－element music therapy in the treatment of cancer－related depression[J]. Support Care Cancer, 2022, 30(10): 7955－7962.
[2] 肖勇，闵晓俊，冯心苑，等. 基于数据挖掘的国医大师梅国强治疗不寐用药规律研究[J]. 中西医结合研究，2022，14(3)：161－168.
[3] 郦涵，胡思源，张云峰，等. 龙牡壮骨颗粒治疗小儿汗证肺脾气虚证(维生素 D 缺乏性佝偻病早期)多中心随机对照临床试验[J]. 中华中医药杂志，2023，38(3)：1351－1356.
[4] 林惠婷，张秋林. 金锁固精丸加味方治疗慢性肾炎蛋白尿的回顾性研究[J]. 时珍国医国药，2023，34(9)：2179－2180.
[5] CHEN Y M, XIONG W, ZHANG Y, et al. Carbon dots derived from Os draconis and their anxiolytic effect[J]. Int J Nanomedicine, 2022, 17: 4975－4988.
[6] 谢彬，李龙妹，陈蒙，等. 桂枝饮片质量评价和分级标准探讨[J]. 中国中药杂志，2024，49(11)：2920－2929.
[7] 张哲雯，康显杰，葛卫红，等. 基于外观性状和内在质量相关联的白术药材等级划分研究[J]. 时珍国医国药，2024，35(2)：372－375.
[8] OGURI K, KAWASE M, HARADA K, et al. Longgu (Fossilia Ossis Mastodi) alters the profiles of organic and inorganic components in Keishikaryukotsuboreito[J]. J Nat Med, 2016, 70(3): 483－491.
[9] 冯飞，郭隆钢，张奕尧，等. 龙骨的快速鉴别方法：CN114910459A[P]. 2022－08－16.
[10] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局. 氯化稀土、碳酸轻稀土化学分析方法 第 14 部分：磷酸根量的测定国家标准：GB/T 16484.20－2009[S]. 北京：国家标准出版社，2009.
[11] 袁明洋. 基于近红外光谱技术对几种矿物类中药的快速鉴别研究[D]. 武汉：湖北中医药大学，2014.
[12] 黄建萍，夏泽冰，井亚江，等. 基于“辨状论质”理论分析不同采收期黄芩外观性状与内在质量的相关性[J]. 中草药，2024，55(10)：3487－3496.
[13] 吴普本草[M]. 北京：中医古籍出版社，2007：69.
[14] 陶弘景. 本草经集注：辑校本[M]. 尚志钧，尚元胜，辑校. 北京：人民卫生出版社，1994：387－388.
[15] 苏敬. 新修本草：辑复本[M]. 2 版. 尚志钧，辑校. 合肥：安徽科学技术出版社，2004：361－362.
[16] 唐慎微. 证类本草[M]. 尚志钧，校点. 北京：华夏出版社，1993：488－490.
[17] 本草图经[M]. 合肥：安徽科学技术出版社，1962：432－433.
[18] 卢之颐. 本草乘雅半偈[M]. 北京：中医古籍出版社，1992：50.
[19] 张志聪. 本草崇原[M]. 刘小平，点校. 北京：中国中医药出版社，1992.
[20] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典：一部[S]. 北京：人民卫生出版社，1964：73－74.
[21] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典：一部[S]. 北京：人民卫生出版社，1977：151.
[22] 南京药学院药材教研组. 药材学[M]. 北京：人民卫生出版社，1960：1306－1307.
[23] 国家中医药管理局编委会. 中华本草：第 2 卷[M]. 上海：上海科学技术出版社，1997：317.
[24] 江苏新医学院. 中药大辞典－上册[M]. 缩印本. 上海：上海科学技术出版社，1986：868.
[25] 卢赣鹏. 500 味常用中药材的经验鉴别[M]. 北京：中国中医药出版社，1999：747.
[26] 崔晓慧，陈龙，刘义梅，等. 基于 X 射线衍射指纹图谱鉴别龙骨[J]. 中成药，2016，38(3)：624－629.
[27] 王晓飞，王友邵，陈代红，等. 赤石脂的本草考证、品质评价及物相分析[J]. 中国实验方剂学杂志，2024，30(21)：176－184.
[28] CAPASSO L, D’ANASTASIO R, GUARNIERI S, et al. Bone natural autofluorescence and confocal laser scanning microscopy: Preliminary results of a novel useful tool to distinguish between forensic and ancient human skeletal remains[J]. Forensic Sci Int, 2017, 272: 87－96.
[29] 许洁芸，赵原，刘浩州，等. 生物源性钙磷灰石尺寸引发的骨仿生层级演变及其骨凝血免疫效应[J]. 华西口腔医学杂志，2024，42(6)：706－715.
[30] LEE J, KAO H G, YANG S H. Service innovation and smart analytics for industry 4.0 and big data environment[J]. Procedia CIRP, 2014, 16: 3－8.
[31] DUTT S, HAMZA I, BARTNIKAS T B. Molecular mechanisms of iron and heme metabolism[J]. Annu Rev Nutr, 2022, 42: 311－335.
[32] 邢梓，侯俊玲，赵一帆，等. 基于超分子体系探究矿物药龙骨在含柴胡的角药配伍中的作用机制[J]. 中国实验方剂学杂志，2024，30(14)：191－198.
[33] 陈迪，宋晨，宋杉杉，等. 9 批正品龙骨药材的年代测定及年代与成分的相关性分析[J]. 光谱学与光谱分析，2023，43(6)：1900－1904.
[34] 孙琳，梁鹏晨，严铸云，等. 六种钙类矿物药元素谱的 X 射线荧光光谱法无标样分析[J]. 中国实验方剂学杂志，2018，24(9)：70－76.

龙骨质量评价研究

（正文见 159－165 页）

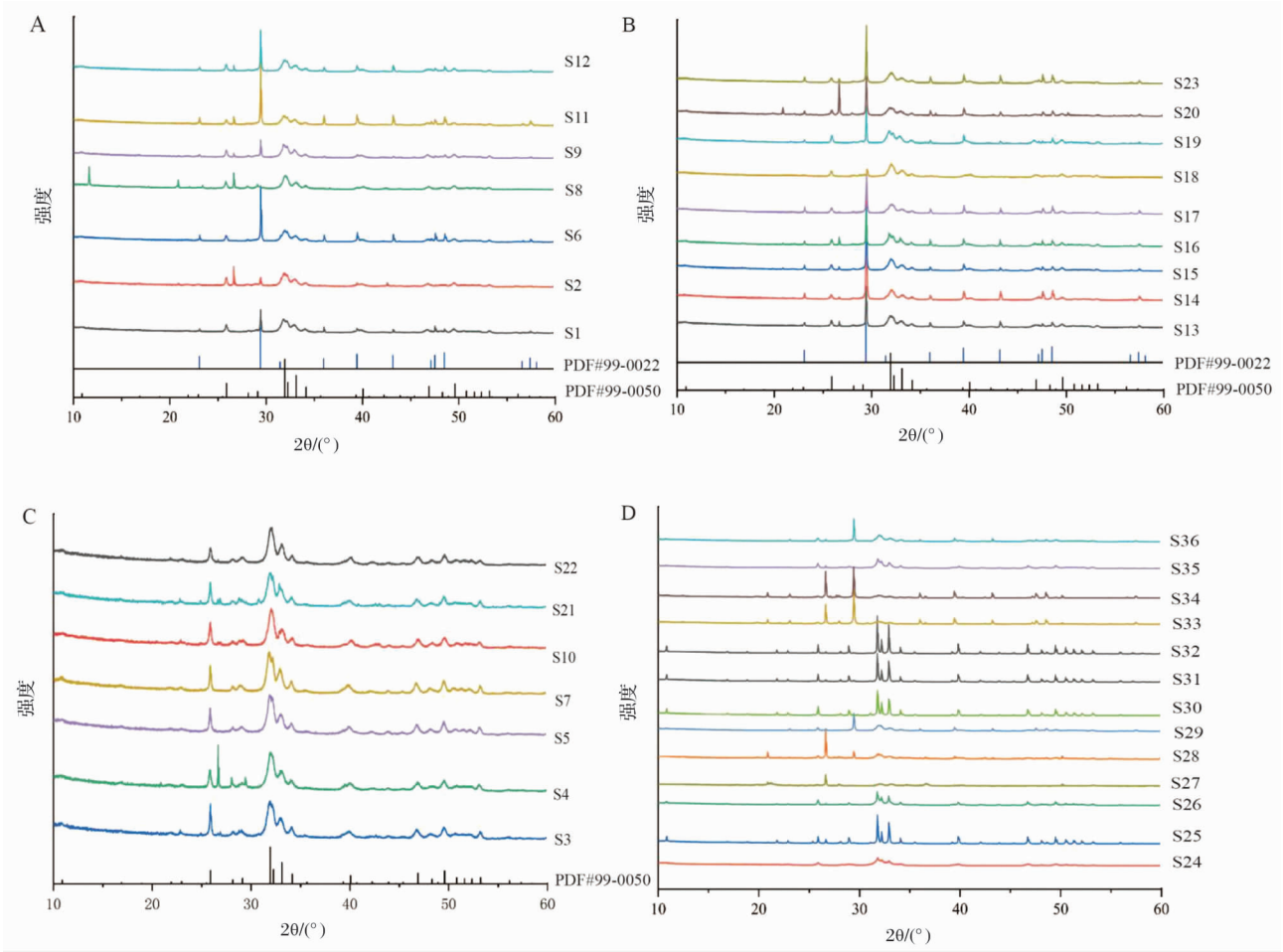


图 1　龙骨样品 XRD 图谱

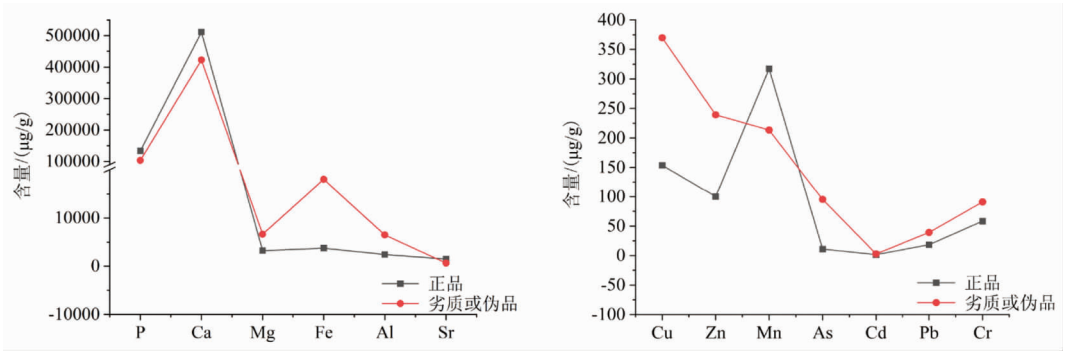
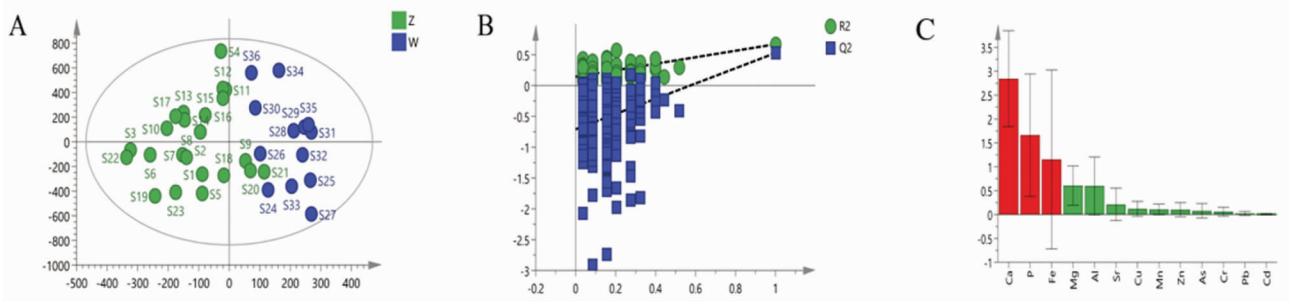
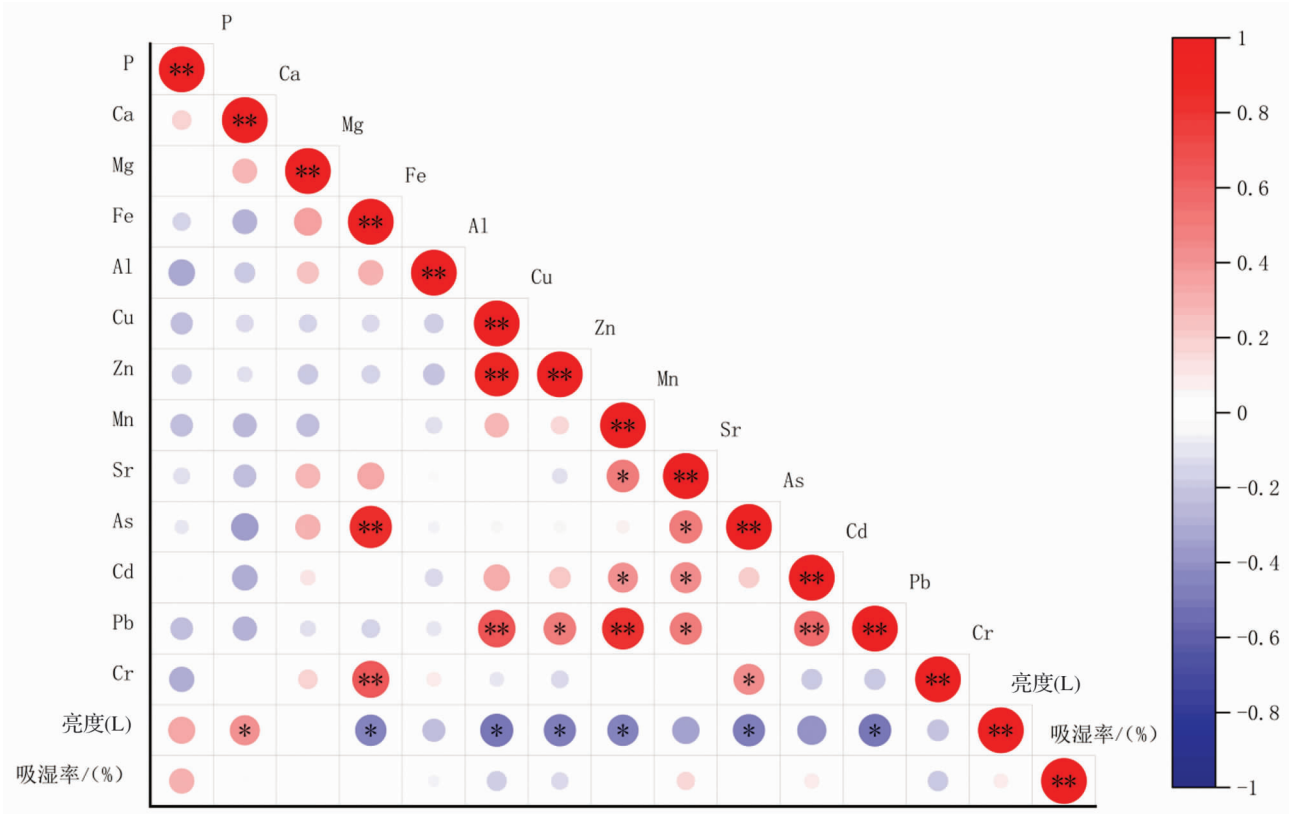


图 2　龙骨合格品与不合格品中主要元素含量的差异



注：A. 得分图；B. 模型验证图；C. VIP 图。

图 3 不同批次龙骨的 OPLS－DA 图



注：$*P<0.05$；$**P<0.01$。

图 4 相关性分析结果图

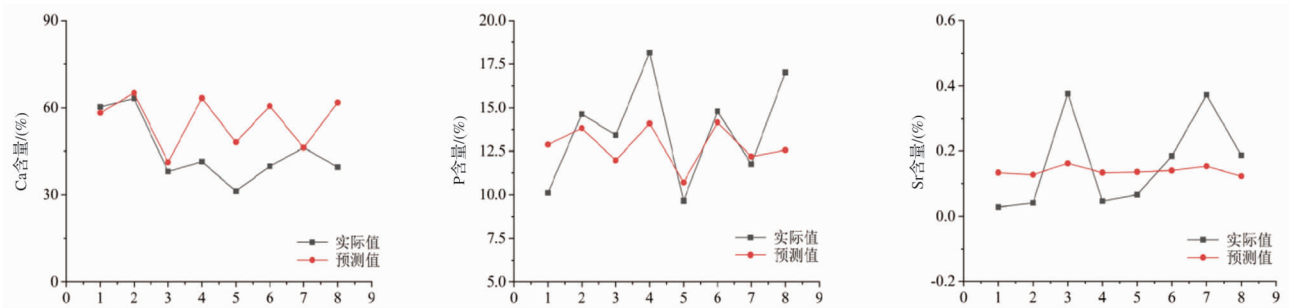


图 5 龙骨“性状指标－元素含量”预测模型预测值与实际值比较