Chinese Traditional Patent Medicine

- [12] 廖 婉, 林美斯, 高天慧, 等. 川产道地药材蓬莪术醋制 前后挥发油的大鼠肠吸收差异研究[J]. 中草药, 2019, 50(17): 4232-4237.
- [13] 高飞,傅超美,胡慧玲,等.川木香煨制前后大鼠在体肠 吸收动力学对比研究[J].中成药,2013,35(11):2466-2470.
- [14] 黄立华,王 建,吴明权,等. 远志、厚朴配伍对其活性 成分在大鼠肠段吸收的影响[J]. 中成药,2015,37(4):739-745.
- [15] 彭 新,陈晓辉,周 浩,等.中药醋制入肝减毒、增效 现代研究[J].中华中医药学刊,2020,38(9):190-194.
- [16] Chen Y, Liao W, Zhu Z P, et al. Essential oil from the raw and vinegar-processed Rhizoma Curcumae ameliorate CCl₄-induced

- liver fibrosis: integrating network pharmacology and molecular mechanism evaluation [J]. Food Funct, 2021, 12(9): 1-22.
- [17] 廖 婉,张 倩,孙良堃,等 萜烯缀合姜黄素类微量成分与姜黄素类成分在不同姜黄属药材中的定性与定量分析 [J].中草药,2020,51(4):1076-1081.
- [18] 甘彦雄,赵思蕾,罗妮妮,等.蓬莪术醋制前后"行气破血"功效变化对比研究[J].现代中药研究与实践,2015,29(2):29-32.
- [19] Chen Y, Zhu Z P, Chen J, et al. Terpenoids from Curcumae Rhizoma: Their anticancer effects and clinical uses on combination and versus drug therapies [J]. Biomed Pharmacother, 2021, 138: 111350.

山药及麸炒山药拉曼指纹图谱分析

彭 艳¹, 张丽颖¹, 金 阳¹, 杨 钊², 陆兔林³, 金传山⁴, 都述虎^{1*} (1. 南京医科大学药学院, 江苏 南京 211166; 2. 九州天润中药产业有限公司, 湖北 武汉 430040; 3. 南京中医药大学药学院, 江苏 南京 210046; 4. 安徽中医药大学药学院, 安徽 合肥 230012)

摘要:目的 比较山药片与麸炒山药饮片的拉曼指纹图谱差异。方法 采用拉曼光谱技术,分别建立山药对照药材、不同产地的山药片和麸炒山药饮片拉曼指纹图谱,确定山药特征拉曼光谱谱峰位置及归属。结果 山药的拉曼光谱显示出了可溶性淀粉的拉曼指纹特征,判别分析可以有效区分广西山药和其他产地山药。山药麸炒后,478 cm⁻¹处的特征峰强度显著降低,并在468 cm⁻¹处和491 cm⁻¹处出现2个新的拉曼峰。结论 山药麸炒前后拉曼指纹图谱有明显差异,表明麸炒后的山药主成分(淀粉)有所变化,所建立的分析方法为完善山药饮片及麸炒山药饮片的质量评价体系奠定了基础。

关键词: 拉曼光谱; 山药; 麸炒山药; 淀粉; 质量控制

中图分类号: R282.5

文献标志码: A

文章编号: 1001-1528(2021)12-3403-06

doi:10.3969/j.issn.1001-1528.2021.12.027

Analysis of Raman fingerprint spectra for *Dioscoreae Rhizoma* and *Dioscoreae Rhizoma* stir-fried with bran

PENG Yan 1 , ZHANG Li-ying 1 , JIN Yang 1 , YANG Zhao 2 , LU Tu-lin 3 , JIN Chuan-shan 4 , DU Shu-hu 1*

(1. School of Pharmacy, Nanjing Medical University, Nanjing 211166, China; 2. Joinative Traditional Chinese Medicine Industry Co., Ltd., Wuhan 430040, China; 3. School of Pharmacy, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210046, China; 4. School of Pharmacy, Anhui University of Chinese Medicine, Hefei 230012, China)

ABSTRACT: AIM To compare Raman fingerprint spectra between *Dioscoreae Rhizoma* (Chinese yam) and *Dioscoreae Rhizoma* stir-fried with bran. **METHODS** Raman spectroscopic technique was used to acquire the

收稿日期: 2021-01-06

基金项目: 国家重点研发计划资助 (2018YFC1707000)

作者简介: 彭 艳 (1984—), 女, 硕士, 实验师, 从事中药质量控制研究

*通信作者: 都述虎 (1962—), 男, 博士, 教授, 从事中药活性成分筛选与中药质量评价研究。Tel: 13770823737, E-mail: shuhudu1962@163.com

Chinese yam stir-fried with bran.

Raman fingerprint spectra of Chinese yam for control use, common Chinese yam from different areas and Chinese yam stir-fried with bran, and the Raman characteristic peaks of Chinese yam and their assignments, respectively. **RESULTS** Chinese yam displayed identical Raman spectrum with the soluble starch. Discriminant analysis effectively distinguished Chinese yam of Guangxi from other producing areas. Stir-frying with bran brought forth significant decrease in characteristic peak intensity of Chinese yam at 478 cm⁻¹, but appearance of two new Raman peaks at 468 cm⁻¹ and 491 cm⁻¹. **CONCLUSION** The significant differences in the Raman fingerprint spectra of Chinese yam before and after stir-frying with bran suggest the change in its composition (starch). The proposed method for the Raman analysis of Chinese yam highlights the further quality control of common Chinese yam and

KEY WORDS: Raman spectra; common Chinese yam; Chinese yam stir-fried with bran; starch; quality control

山药为薯蓣科植物薯蓣 Dioscorea opposita Thunb. 的干燥根茎,记载于《山海经》《神农本草经》《图经本草》《本草纲目》《植物名实图考》等中医药典籍中[1]。山药味甘,性平,归脾、肺、肾经,具有补脾养胃、生津益肺、补肾涩精的功效。2020 年版《中国药典》记载的山药饮片主要有生山药和麸炒山药,其鉴定仅局限在性状、显微和薄层色谱鉴别,主要是针对山药的真伪鉴别,但对于不同产地山药之间的差异,特别是对山药炮制前后的化学成分变化研究甚少,给山药质量控制带来了很大的困难。因此,发展一种快速简便的分析方法,对山药质量标准提升具有重要意义。

拉曼光谱是一种散射光谱,通过散射峰的位置和强度得到分子振动、转动方面的信息,并应用于分子结构研究。随着拉曼光谱技术发展,拉曼光谱的应用已经越来越广泛,作为一种现代光学检测分析技术被 2020 年版《中国药典》四部通则收录。近几年来,拉曼光谱以其操作简便、精细如"指纹"的分辨能力和不受水分干扰等优点成功应用于中药材的无损定性鉴别[2-7]。本实验对不同产地的山药饮片及其麸炒前后的拉曼指纹图谱进行分析,以期为麸炒前后山药的质量控制提供新途径。

1 材料

DXR 激光共聚焦拉曼光谱仪 (美国赛默飞公司)。山药对照药材 (批号 121137-201606) 购自中国食品药品检定研究院;可溶性淀粉 (分析纯,批号 20191213) 购自国药集团化学试剂有限公司。山药及麸炒山药选片、统片 (产地河南)由湖北麻城九州中药发展有限公司提供,其余山药饮片购自河南、河北、广西及安徽,见表 1。山药片经南京医科大学药学院陈立娜教授鉴定为薯蓣科植物薯蓣 Dioscorea opposita Thunb. 的干燥根茎切制而成。

表 1 样品信息 Fab. 1 Information of samples

编号	样品	产地
1	山药选片	河南
2	山药统片	河南
3	麸炒山药选片	河南
4	麸炒山药统片	河南
5	山药饮片	河南焦作
6	山药饮片	河北辛集
7	山药饮片	河北邢台
8	山药饮片	河北蠡县
9	山药饮片	广西
10	山药饮片	安徽

2 方法与结果

- 2.1 拉曼光谱条件 扫描范围 2 000~400 cm⁻¹;
 10 倍物镜;激光功率 24 mW,激发波长 780 nm;
 狭缝光阑 50 μm,曝光时间 10 s,累积 10 次。
- 2.2 测定方法 检测时将样品平面置于载玻片上, 使其位于拉曼光谱仪载物台的物镜下测定,按采集 参数随机采集样品的拉曼光谱,计算平均光谱用于 分析比较。
- 2.3.1 激发波长选择 取山药对照药材颗粒适量,固定激光功率 24 mW,狭缝光阑 25 μm,曝光时间 2 s,累积 10 次,按"2.2"项下方法分别在 532、633、780 nm 激发波长下进行检测。结果显示,780 nm 激发波长下山药对照药材的基线噪音最小,峰形最好,因此使用该波段激发光进行测定,能够有效避免荧光对样品拉曼信号的影响。故选择780 nm为最佳激发波长。
- 2.3.2 光阑类型选择 取山药对照药材颗粒适量, 固定激光功率 24 mW, 激发波长 780 nm, 曝光时

间 2 s, 累积 10 次, 按"2.2"项下测定方法, 分别在针孔光阑(25、50 μm)和狭缝光阑(25、50 μm)和狭缝光阑(25、50 μm)下进行检测。测定结果显示拉曼光谱仪的光阑类型对山药光谱影响较大, 狭缝光阑下光谱的分辨率明显高于针孔光阑, 且随着狭缝宽度增大, 光谱强度增强。因此本实验中最后选择 50 μm 狭缝光阑进行后续的实验。

2.3.3 激光功率选择 取山药对照药材颗粒适量,固定激发波长 780 nm,光阑 50 μm,曝光时间 2 s,累积 10 次,按"2.2"项下测定方法,分别在 8、16、24 mW 激光功率下进行检测。结果显示激光功率越大,拉曼峰强度越强,因此后续实验激光功率选择 24 mW。

2.3.4 曝光时间选择 取山药对照药材颗粒适量,固定激光功率 24 mW 激发波长 780 nm,光阑 50 μm,累积 10 次,按"2.2"项下测定方法,分别曝光 2、5、10 s 对其进行检测。结果显示光谱采集时的曝光时间越长,拉曼峰强度越强,信噪比值越大,当积分时间为 10 s 时山药对照药材的拉曼特征峰峰形最好,基线噪音较小,再提高曝光时间,谱图没有明显改善,且损害激光器的使用寿命,因此后续实验曝光时间选择 10 s。

2.3.5 累积次数选择 取山药对照药材颗粒适量,固定激光功率 24 mW 激发波长 780 nm,光阑 50 μm,曝光时间 10 s,按"2.2"项下测定方法,分别累积 2、5、10 次进行检测。结果显示随着累积次数的增加,山药对照药材的拉曼光谱图基线噪音会越来越小,但累积次数过多会严重影响实验时间,损害仪器寿命,综合考量确定累积次数为10 次。

2.4 山药拉曼峰归属 取山药对照药材颗粒适量,在"2.1""2.2"项条件下进行检测,选取6个不同点进行扫描,得到的山药拉曼光谱峰形、峰强度均相对稳定,见图1。在山药对照药材拉曼光谱中,478、866、941、1460 cm⁻¹处出现明显的特征峰;440、523、577、616、713、770、1050、1082、1126、1263、1339、1380 cm⁻¹处出现较明显的拉曼峰。这些拉曼峰反映了山药拉曼光谱的指纹特性。和可溶性淀粉比较,发现山药对照药材与可溶性淀粉的拉曼特征峰峰形相似,见图2。

查阅文献[8-10],可知800~400 cm⁻¹处的振动是由于糖苷环骨架的弯曲振动所造成,其中478 cm⁻¹处的峰是由吡喃糖环的骨架振动引起,常作为直链淀粉与支链淀粉即淀粉多糖特征峰,另外

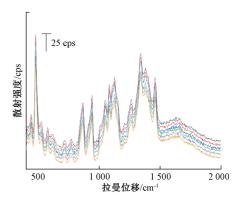


图 1 山药对照药材拉曼光谱 (n=6)

Fig. 1 Raman spectra of Chinese yam for control (n=6)

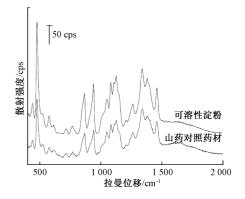


图 2 山药对照药材与可溶性淀粉拉曼光谱比较
Fig. 2 Comparison of Raman spectra between
Chinese yam for control and soluble starch

其峰强度反映了多糖的聚合程度;770 cm⁻¹处的峰是由 N-甲基甲酰胺的 C-C 伸缩振动引起 (可能有尿囊素);1 200~800 cm⁻¹处的振动是 C-O 和 C-C 键的特征伸缩振动以及糖苷键中 C-O-C 的弯曲振动,其中 866 cm⁻¹处的峰来源于 C-O-C 环和 C-H 弯曲振动,941 cm⁻¹处的振动是由于直链淀粉 α-1,4 糖苷键的 C-O-C 的弯曲振动引起。1 500~1 200 cm⁻¹处的振动源于氢原子的耦合,其中1 263 cm⁻¹处与 CH₂OH 侧链相关,1 339 cm⁻¹处为 C-O-H 弯曲振动,1 380 cm⁻¹为 CH₂、C-H 和 C-O-H 的弯曲振动,1 460 cm⁻¹处为 CH₂ 的弯曲振动。实验所获得的山药拉曼光谱峰信号,显示了山药中淀粉的指纹特性^[8-11]。山药对照药材拉曼光谱特征峰振动模式归属,见表 2。

2.5 拉曼显微成像分析 取山药选片 1 片置于样品台,在"2.2"项条件下进行面扫描,X 轴步距为 2 000 μm,Y 轴步距为 3 500 μm,共 40 个扫描点。以 478 cm⁻¹处特征峰强度绘制 mapping 图,结果见图 3,扫描范围内山药选片表面各检测点的峰

Vol. 43 No. 12

强度均一性较好,后续实验可在样品表面随机采样 收集光谱信息。

表 2 拉曼光谱谱峰位置及归属

Tab. 2 Positions and their assignments of Raman peaks for Chinese yam for control

拉曼位移/cm ⁻¹	初步归属		
440	吡喃糖环 C-O-C 骨架的弯曲振动		
478	吡喃糖环 C-O-C 骨架的弯曲振动		
523	吡喃糖环 C-O-C 骨架的弯曲振动		
577	吡喃糖环 C-O-C 骨架的弯曲振动		
616	吡喃糖环 C-O-C 骨架的弯曲振动		
713	吡喃糖环 C-O-C 骨架的弯曲振动		
770	C-C 伸缩振动		
866	C-H,CH ₂ 变形振动		
941	α-1,4 糖苷键 C-O-C 的弯曲振动		
1 050	C-C 伸缩振动		
1 082	C-O-H 弯曲振动		
1 126	C-O 伸缩振动, C-O-H 弯曲振动		
1 263	CH ₂ OH 相关		
1 339	C-O-H 弯曲振动		
1 380	CH_2 剪式振动, C -H 和 C -O-H 的弯曲振动		
1 460	CH ₂ 弯曲振动		

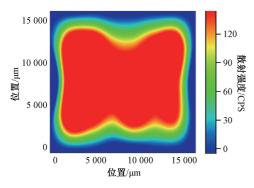


图 3 478 cm⁻¹处山药选片面扫描图

Fig. 3 Raman mapping image of selected Chinese yam with Raman band at 478 cm⁻¹

2.6 重复性试验 分别取山药选片 5 片,在 "2.1" "2.2" 项条件下,分别在 5 个片子中心表面进行拉曼检测,5 组山药特征峰强度的 RSD 小于 4.0%,拉曼位移 RSD 小于 0.1%。

2.7 不同产地山药拉曼光谱分析 在 "2.1" "2.2" 项条件下,分别对河南、河北、广西、安徽不同产地的山药饮片进行拉曼光谱检测,得到拉曼光谱图。图 4显示,所有山药样品在 400~1500 cm⁻¹的光谱范围内均出现了明显的指纹特征峰,不同产地的山药饮片指纹图谱比较基本一致,且不同产地山药拉曼光谱峰差异不大,较难区分。为进一步扩大山药拉曼光谱之间的差异,对各产地山药拉曼光谱进行一阶导数和二阶导数转化处理,

见图 5~6。综上结果提示,仅凭拉曼光谱很难区分不同产地山药的差异。

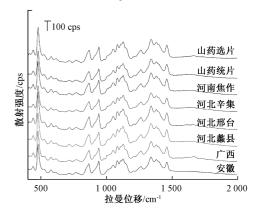


图 4 不同产地山药与可溶性淀粉的拉曼光谱

Fig. 4 Raman spectra of Chinese yam from different areas and soluble starch

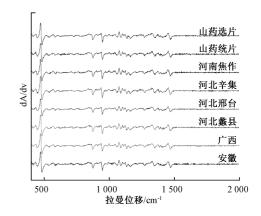


图 5 不同产地山药的拉曼光谱一阶导数转换 Fig. 5 First derivative transformations of Raman spectra of Chinese yam from

different areas

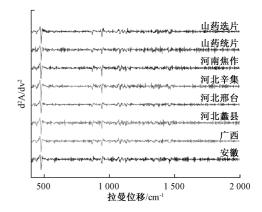


图 6 不同产地山药的拉曼光谱二阶导数转换
Fig. 6 Second derivative transformations of Raman spectra of Chinese yam from different areas

2.8 判别分析 采用 TQ Analyst 软件 (7.2.2.161

版本)对河南、河北、广西、安徽四个产地的山药饮片拉曼光谱数据进行判别分析,以马氏距离单位计算各样品与各类中心之间的距离,并根据样品与中心距离的远近做出判别,以确定样品属于哪一个类别。距离值越接近零,则匹配越好。采用全模型法,选择山药拉曼光谱指纹区间 400~1 500 cm⁻¹,对不同产地山药进行判别分析,每个产地的山药饮片取 10个样本量,分析图中,横坐标为样本距离河南组的马氏距离,纵坐标为样本距离广西组的马氏距离,见图 7。结果显示,广西山药样本单独聚为一类,能够很好地与河南、河北和安徽山药区分开来。即通过判别分析可以有效区分广西山药和其他 3 个产地山药。

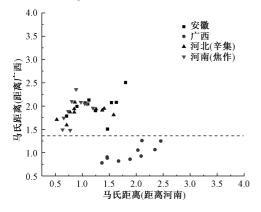


图 7 不同产地山药判别分析结果
Fig. 7 Results of discriminant analysis for
Chinese yam from different areas

2.9 麸炒山药拉曼光谱分析 取麸炒山药饮片, 对其表面和截面进行拉曼光谱检测,结果见图 8~ 9. 麸炒山药饮片表面拉曼光谱荧光背景较强, 478 cm-1处的特征峰是直链淀粉与支链淀粉多糖成 分的有效标志,强度显著降低,在 468、491 cm⁻¹ 处出现2个新的拉曼散射峰,分别为葡萄糖吡喃糖 环的骨架振动。为进一步分析 478 cm⁻¹处特征峰强 度麸炒前后的变化,分别取山药及麸炒山药饮品各 6片,进行拉曼光谱扫描,并根据其峰强度进行计 算,结果显示山药麸炒前后峰强度降低约80%, 见表 3、与文献「11]报道的总淀粉含量降低值接 近,提示山药在麸炒过程中,饮片表面的淀粉多糖 发生了降解, 多糖转化为葡萄糖[12-13], 即表明山 药麸炒前后表面多糖含量及单糖组成存在差异。同 时将麸炒山药饮片切开取截面平扫, 麸炒山药截面 拉曼光谱图和同批生山药拉曼光谱图相比,峰位移 和峰强度没有太多变化,可见麸炒山药内部淀粉含 量没有变化。

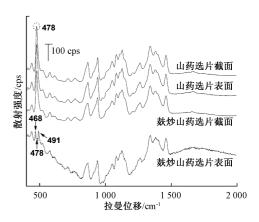


图 8 山药选片和麸炒山药选片表面与截面拉曼光谱比较
Fig. 8 Comparison of Raman spectra obtained on surface
and cross-section of selected Chinese yam and
Chinese yam stir-fried with bran

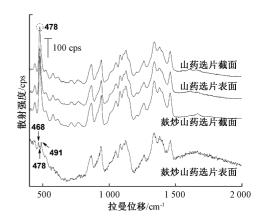


图 9 山药统片和麸炒山药统片表面与截面拉曼光谱比较 Fig. 9 Comparison of Raman spectra obtained on surface and cross-section of common Chinese yam and Chinese yam stir-fried with bran

表 3 山药与麸炒山药饮片 478 cm^{-1} 处特征峰强度分析结果 (n=6)

Tab. 3 Analysis results of characteristic peak intensity at 478 cm^{-1} for Chinese yam and Chinese yam stirfried with bran (n=6)

样品名称	峰强度/cps	下降百分比/%	相对标准偏差/%
山药选片	312. 56	81. 09	1. 2
麸炒山药选片	59. 10		
山药统片	279. 70	83.33	0.8
麸炒山药统片	46. 63		

3 讨论

本研究对各产地的山药拉曼光谱图分别进行一阶导数、二阶导数转换处理,很难区分不同产地山药的差异。进一步对1500~400 cm⁻¹指纹区间的峰进行判别分析,可以直观区分广西山药和其他3个产地(河南、河北、安徽)的山药,可能是由于

广西和其他3个产地的地域相差较远,气候、地质特点不同。

山药经过麸炒后,在800~400、2000~1500 cm⁻¹ 区域内图谱的背景强度显著升高,这可能是因为山 药在麦麸炮制过程中, 山药中的氨基化合物(如 氨基酸)和还原糖(如葡萄糖)在常温或加热时 发生聚合/缩合反应[14] (美拉德反应), 生成类黑 精等褐色物质, 使麸炒山药饮片表面颜色加深, 干 扰了拉曼光谱的测定。另一方面,478 cm⁻¹处的拉 曼峰常作为淀粉多糖特征峰, 其峰强度反映了多糖 的聚合程度, 麸炒山药表面478 cm-1处拉曼特征峰 的降低,提示山药在麸炒过程中,饮片表面的淀粉 多糖发生了降解,且根据峰强度下降程度,初步得 知麸炒表面淀粉降解约 80%。478 cm⁻¹处拉曼峰 的强度变化, 可作为山药饮片麸炒过程中的动态 变化,以期为麸炒炮制工艺提供动态监测数据。然 而麸炒山药饮片的截面却没有出现峰强度的降 低,可见麸炒过程中淀粉的一系列反应只存在于 表面。

4 结论

本研究对山药的拉曼光谱进行方法学研究,建立了山药拉曼指纹图谱的分析方法,分别对8批山药片特征图谱进行分析,拉曼谱中出现在478、866、941、1460 cm⁻¹处的强峰,可认为是山药片的特征峰。此外,发现山药与可溶性淀粉的拉曼指纹图谱基本一致,验证了山药根茎部的主要成分是淀粉。关于山药的拉曼光谱研究虽有文献报道^[15],但对其炮制后物料性质及主要成分变化的研究甚少。研究表明,山药麸炒前后物料性质存在显著差异,这为两者的质量标准研究提供了依据。该方法不需要任何样品前处理,具有速度快、无损及无污染等特点,是绿色的分析方法,以期为山药及麸炒山药饮片的质量评价标准的制订提供参考。

参考文献:

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典: 2020 年版一部 [S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2020: 30.
- [2] 雷 咪,陈 龙,黄必胜,等.6种含硫酸盐的矿物类中 药及其部分炮制品的拉曼光谱鉴别研究[J].中华中医药 杂志,2016,31(7);2811-2814.
- [3] 明 晶,陈 龙,黄必胜,等.7种毒性矿物类中药拉曼 光谱解析[J].时珍国医国药,2016,27(10):2423-2426.
- [4] 逯美红,郝阳,刘智星,等.黄芩中药饮片的拉曼光谱检测及分析[J].长治学院学报,2018,35(5):1-3.
- [5] 卫程华,陈 娟,许曼翎,等.表面增强拉曼光谱法快速 分析中药三七的有效成分[J]. 江苏大学学报(医学版), 2015,25(3):263-267;270.
- [6] 董晶晶, 戚雪勇, 戈延茹. 激光拉曼光谱快速测定中药姜黄[J]. 海峡药学, 2016, 28(12): 55-58.
- [7] 俞 允,何 雁,陈伟炜,等. 拉曼光谱在中药检测中的研究进展[J]. 江西中医学院学报,2013,25(2):85-88.
- [8] 史苗苗,李 丹, 闫溢哲,等. 不同结晶结构淀粉的拉曼 光谱分析[J]. 食品与发酵工业, 2018, 44(3): 241-246.
- [9] 刘延奇,胡丹丹,徐 瑛,等. 拉曼光谱在淀粉结晶结构 表征中的应用研究[J]. 食品科技,2015,40(1):315-318.
- [10] Kizil R, Irudayaraj J, Seetharaman K. Characterization of irradiated starches by using FT-Raman and FTIR spectroscopy
 [J]. J Agric Food Chem, 2002, 50(14): 3912-3918.
- [11] 陈天朝, 贾晴晴, 李瑞颖, 等. 山药清炒炮制前后物料性 质及成分含量测定[J]. 中国中医药信息杂志, 2019, 26 (4); 91-95.
- [12] 董泰山,韩晓静. 基于核磁共振的山药与麸炒山药化学成分比较[J]. 中国现代中药, 2015, 17(7): 673-678.
- [13] 蔡 皓,傅紫琴,李俊松,等. 山药麸炒前后多糖成分的含量及单糖组成研究[J]. 南京中医药大学学报,2008,24(2):104-106;147.
- [14] 宫瑞泽, 霍晓慧, 张 磊, 等. 美拉德反应对中药品质的 影响 及调控 研究 进展 [J]. 中草药, 2019, 50(1): 243-251.
- [15] 肖 静,朱梦军.不同品种山药的拉曼光谱分析[J]. 医药导报,2013,32(12):1641-1645.