

基于三维荧光光谱及模式识别技术 对当归质量的分析与鉴别

郭晴茹^{1,2}, 刘红¹, 石振萍³, 杨扶德³, 石晓峰⁴, 邵士俊^{1*}

(1. 中国科学院兰州化学物理研究所, 中国科学院西北特色植物资源化学重点实验室, 甘肃省天然药物重点实验室, 甘肃兰州 730000) (2. 中国科学院大学存济医学院, 北京 100093)

(3. 甘肃中医药大学药学院, 甘肃兰州 730000) (4. 甘肃省医学科学研究院, 甘肃兰州 730050)

摘要: 利用荧光光谱分析技术, 筛选供试品溶液制备和光谱分析测试条件, 建立当归提取物三维荧光光谱质量分析和判别方法。研究表明, 当归水提取物与 50% 甲醇-水提取物具有相似的三维荧光光谱, 主要呈现出 270 nm/345 nm、270 nm/475 nm 和 330 nm/475 nm 三个特征激发/发射 ($\lambda_{ex}/\lambda_{em}$) 峰, 但特征峰的相对强度存在一定差异; 乙酸乙酯提取物的三维荧光光谱呈现了 265 nm/295 nm, 325 nm/425 nm 两个特征荧光峰。当归提取物的三维荧光光谱具有良好的专属性, 能够实现当归与其同科属中药材川穹、独活、北沙参、蛇床子和小茴香的快速有效鉴别。结合 SPSS 22 软件计算机模式识别方法, 当归水提取物三维荧光光谱能够实现针对不同产区和品种当归的分类和判别, 与实际结果完全一致。中药当归提取物的三维荧光光谱提供了当归荧光物质组成与含量信息; 结合计算机模式识别方法, 三维荧光光谱能够实现针对不同产地当归的分类和判别, 方法简便、快捷、准确, 可以用于当归药材质量一致性评价和真伪鉴别, 为深入研究和建立当归三维荧光光谱指纹图谱质控技术提供参考。

关键词: 当归; 荧光光谱分析; 三维荧光光谱; 模式识别

文章编号: 1673-9078(2021)09-294-304

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2021.9.0106

Analysis and Identification of *Angelica* Quality Based on Three-dimensional Fluorescence Spectroscopy and Pattern Recognition Technology

GUO Qing-ru^{1,2}, LIU Hong¹, SHI Zhen-ping³, YANG Fu-de³, SHI Xiao-feng⁴, SHAO Shi-jun^{1*}

(1. CAS Key Laboratory of Chemistry of Northwestern Plant Resources and Key Laboratory for Natural Medicine of Gansu Province, Lanzhou Institute of Chemical Physics, Chinese Academy of Sciences, Lanzhou 730000, China)

(2. University of Chinese Academy of Sciences, Savaid Medical School, Beijing 100093, China)

(3. Gansu University of Chinese Medicine, College of Pharmacy, Lanzhou 730000, China)

(4. Gansu Academy of Medical Science, Lanzhou 730050, China)

Abstract: The fluorescence spectral analysis technology was used to screen the preparation and test conditions of the sample solution, and the three-dimensional (3D) fluorescence spectrum quality analysis and discrimination method of *Angelica sinensis* extracts were established. The results showed that the 3D fluorescence spectral features of the water extracts were similar to those of the 50% methanol-water extracts,

引文格式:

郭晴茹, 刘红, 石振萍, 等. 基于三维荧光光谱及模式识别技术对当归质量的分析与鉴别[J]. 现代食品科技, 2021, 37(9): 294-304

GUO Qing-ru, LIU Hong, SHI Zhen-ping, et al. Analysis and identification of angelica quality based on three-dimensional fluorescence spectroscopy and pattern recognition technology [J]. Modern Food Science and Technology, 2021, 37(9): 294-304

收稿日期: 2021-01-30

基金项目: 甘肃省委组织部人才发展专项资金项目 (甘组【2018】23 号); 中科院兰州化物所十三五重大突破项目 (2016-2020); 兰州市人才创新创业科技计划项目 (2017-RC-112); 甘肃省科技小巨人企业培育计划项目 (17CXIJA084)

作者简介: 郭晴茹 (1993-), 女, 硕士研究生, 研究方向: 药物分析, E-mail: 861758270@qq.com

通讯作者: 邵士俊 (1968-), 男, 博士, 研究员, 研究方向: 分子识别与分离分析方法研究, E-mail: sjshao@licp.cas.cn

which mainly exhibited three characteristic excitation/emission peaks with different relative emission intensities at 270 nm/345 nm, 270 nm/475 nm and 330 nm/475 nm ($\lambda_{ex}/\lambda_{em}$), respectively. The 3D fluorescence spectra of ethyl acetate extracts showed two characteristic fluorescence peaks of 265 nm/295 nm and 325 nm/425 nm. The established 3D fluorescence spectra of *Angelica sinensis* extracts also showed good specificities, which can realize the rapid and effective identification of several Chinese herbs from the same category of *Angelica sinensis*, i.e., Chuanxiong rhizoma, *Angelicae pubescentis* Radix, *Glehniae* Radix, *Cnidii* Fructus and *Foeniculi* Fructus. Combined with the computer pattern recognition method, the 3D fluorescence spectral information of the water extracts of *Angelica sinensis* samples from different producing areas and varieties were analyzed and discriminated by SPSS 22 software, and the results showed that the *Angelica sinensis* samples could be distinguished effectively, which were completely consistent with the actual results. The 3D fluorescence spectra of *Angelica sinensis* extracts showed the characteristic spectral morphology, which can reflect the information on composition and content of fluorescent substances. Combined with the computer pattern recognition method, the 3D fluorescence spectrum of the water extract of *Angelica sinensis* can realize the classification and discrimination of *Angelica sinensis* from different producing areas and varieties. The method is simple, fast and accurate, and can be used for quality consistency evaluation and authenticity identification of *Angelica sinensis* medicinal materials, which also provides a reference for further research and establishment of the quality control technology of 3D fluorescence spectrum fingerprint of *Angelica sinensis*.

Key words: *Angelica sinensis*; fluorescence spectral analysis; three-dimensional fluorescence spectrum; pattern recognition

三维荧光光谱提供了荧光强度随激发波长和发射波长同时变化的荧光信息, 也称为全扫描荧光光谱, 它能够完整地描述物质的荧光特征, 具有灵敏度高、选择性好等优点, 且获得的三维荧光等高线图具有指纹性^[1,2]。三维荧光光谱分析技术已在石油化工、医药、环保等领域得到广泛应用^[3-5]。针对植物鉴别与质量评价, 三维荧光指纹图谱具有能够反映多组分复杂体系整体化学特征的独特优势, 极具应用潜力^[6]。

当归为伞形科植物当归[*Angelica sinensis* (Oliv.) Diels]的干燥根, 味甘、辛, 性温, 归肝、心、脾经, 具有补血活血、调经止痛、润肠通便之功效^[7], 有“补血圣药”之称, 在调节人体血液功能、保肝强肾健体等方面具有重要的药理作用。在我国传统饮食文化中, 当归作为香辛料和调味品被广泛食用, 美国、欧盟、日本也将当归作为香辛料食用。作为一种常用的大宗药食同源物质, 当归的食品安全与质量控制至关重要^[8-14]。当归的化学成分可分为苯酞类、香豆素类、有机酸类, 以及氨基酸、多糖、维生素和微量元素等多种类别, 目前, 主要采用紫外光谱、荧光光谱、红外光谱、高效液相色谱等方法对当归的化学成分/组分进行定性定量分析, 用于当归质量控制与评价, 将三维荧光光谱分析挤模式识别技术应用于当归质量分析与鉴别的研究鲜有报道^[15-19]。本工作结合当归所含化学成分, 如苯酞类、黄酮类、生物碱类、氨基酸和蛋白质等所具有的光谱性质, 研究建立当归水溶性、醇溶性和脂溶性提取物的三维荧光光谱分析方法, 并将三维荧光光谱信息与计算机模式识别技术相结合, 应用于当归质量一致性评价和真伪鉴别, 为当归快速鉴别和质量评价提供参考。

1 材料与amp;方法

1.1 仪器

Lambda 35 紫外可见分光光度计, PerkinElmer 公司; Fluorolog-3 荧光光谱仪, HORIBA 公司; PB-10/C 标准型 pH 计, Sartorius 公司; JB-040S 洁盟牌超声波清洗机, 深圳市洁盟清洗设备有限公司。

1.2 材料

当归、欧当归样本分别采集于甘肃岷县、漳县、渭源、陇西、宕昌、天祝、临潭和青海湟源等种植基地(见表 1), 经甘肃中医药大学杨扶德教授鉴定为伞形科植物当归[*Angelica sinensis* (Oliv.) Diels]的干燥根、伞形科植物欧当归(*Levisticum officinalis* Koch)的干燥根。伞形科植物川穹、独活、北沙参、蛇床子和小茴香购买于兰州市药店, 水为超纯水, 其它试剂均为分析纯。

1.3 方法

以采自甘肃岷县的当归药材为样本, 进行当归特征提取物制备条件和光谱分析条件的筛选优化实验, 系统考察影响因素, 建立供试品溶液制备及三维荧光光谱分析方法。

1.3.1 供试品溶液制备

1.3.1.1 水提取物

当归粉碎, 过 40 目筛, 准确称取 5.00 g, 加入 100 mL 水, 浸泡 30 min 后, 油浴磁力搅拌回流提取 30 min, 冷却后, 补齐重量, 经离心分离, 取上清液作为母液备用(浓度 50.00 mg/mL, 即每毫升相当于 50.00 mg 药材)。用超纯水稀释, 配制成适当浓度的供试品溶液, 用于光谱分析。

表 1 不同产区当归样品

Table 1 *Angelica sinensis* samples from different producing areas

| 样品号 | 产地 | 地理位置 | 海拔/m | 采集时间 |
|-----|------------|--------------------------------------|-----------|------|
| 1 | 甘肃岷县 | 东经 103°41'~104°59', 北纬 34°07'~34°45' | 2040~3754 | 2019 |
| 2 | 甘肃漳县 | 东经 103°57'~104°45', 北纬 34°25'~34°57' | 1640~3941 | 2019 |
| 3 | 甘肃渭源 | 东经 104°02'~104°49', 北纬 33°26'~35°07' | 1930~3941 | 2019 |
| 4 | 甘肃陇西 | 东经 104°18'~104°54', 北纬 34°50'~35°23' | 1612~2778 | 2019 |
| 5 | 甘肃宕昌 | 东经 104°01'~104°48', 北纬 33°46'~34°23' | 1138~4154 | 2019 |
| 6 | 甘肃临潭 | 东经 103°10'~103°52', 北纬 34°30'~35°05' | 2209~3926 | 2019 |
| 7 | 甘肃天祝 | 东经 102°07'~103°46', 北纬 36°31'~37°55' | 2040~4874 | 2019 |
| 8 | 青海湟源 | 东经 100°54'~101°25', 北纬 36°20'~36°53' | 2470~4898 | 2019 |
| 9 | 甘肃陇西 (欧当归) | 东经 104°18'~104°54', 北纬 34°50'~35°23' | 1612~2778 | 2019 |

1.3.1.2 甲醇-水提取物

当归粉碎, 过 40 目筛, 准确称取 2.00 g 于具塞三角瓶中, 加入甲醇-水 (V:V, 1:1) 40 mL, 超声提取 45 min, 离心分离, 取上清液作母液备用 (浓度 50.00 mg/mL, 即每毫升相当于 50.00 mg 药材)。用 50% 甲醇-水溶剂稀释, 配制成适当浓度的供试品溶液, 用于光谱分析。

1.3.1.3 乙酸乙酯提取物

当归粉碎, 过 40 目筛, 准确称取 5.00 g 于索氏提取器中, 加入 100 mL 乙酸乙酯, 加热回流 2 h, 抽提至抽取筒内溶剂无色, 提取液转移至圆底瓶中, 冷却后补齐重量, 作为母液备用 (浓度 50.00 mg/mL, 即每毫升相当于 50.00 mg 药材)。用乙酸乙酯稀释, 配制成适当浓度的供试品溶液, 用于光谱分析。

1.3.2 缓冲溶液配制

称取磷酸氢二钠 9.47 g 和磷酸二氢钾 9.07 g 分别加入 1000 mL 的容量瓶中, 加蒸馏水溶解并定容, 贮存在 4 °C 的冰箱中, 用时分别按不同比例混合, 利用酸度计调控 pH 值, 配制 pH 4.0~pH 9.0 一系列溶液。强酸 (pH 2.0) 或强碱 pH (pH 11.0) 分别用 1.2 mol/L HCl 溶液或 1.0 mol/L NaOH 溶液调配。

1.3.3 吸收和荧光光谱测试

室温下测定供试品溶液的紫外可见吸收光谱和荧光光谱。三维荧光光谱测试条件为: 激发波长 (λ_{ex}) 范围 250~400 nm, 采样间隔 10 nm, 激发狭缝 2 nm; 发射波长 (λ_{em}) 范围 270 nm~600 nm, 采样间隔 10 nm, 发射狭缝 2 nm; 积分时间 0.2 s。

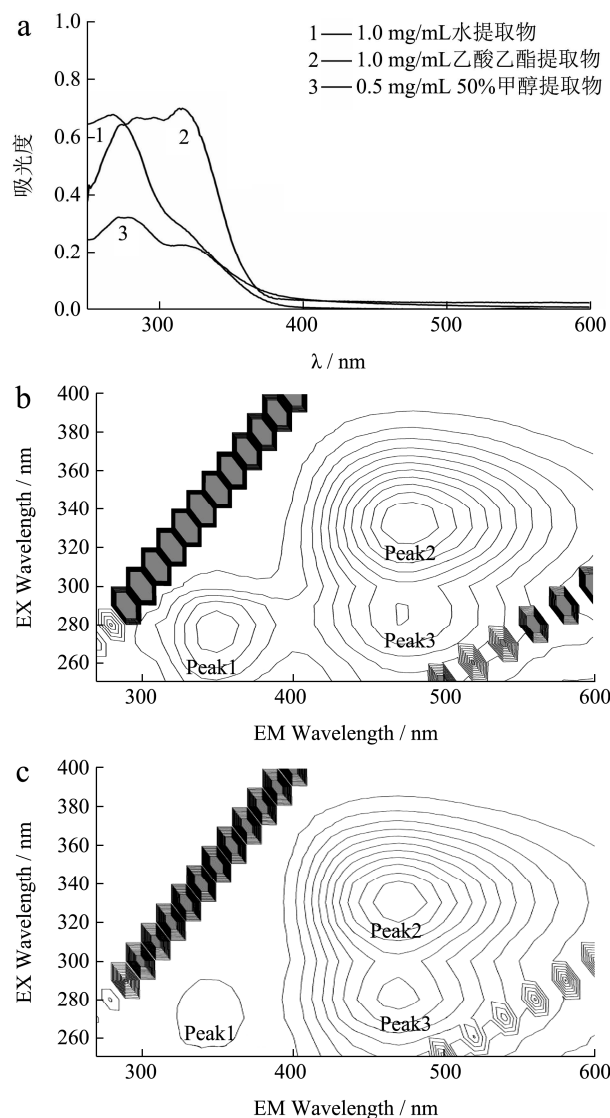
1.3.4 数据处理

为减小实验误差每个样品测定 2~5 次, 采用 Origin 整理各次测定得到的三维荧光光谱图中相对应的数据, 建立判别函数, 采用 SPSS 22 软件进行数据处理和判别分析, 差异显著水平为 $p < 0.05$ 。

2 结果与讨论

2.1 当归提取物的三维荧光光谱

在优化的供试品制备方法和光谱测试条件下, 当归水提取物、50% 甲醇-水提取物和乙酸乙酯提取物的紫外吸收光谱和三维荧光光谱分析结果如图 1 所示。



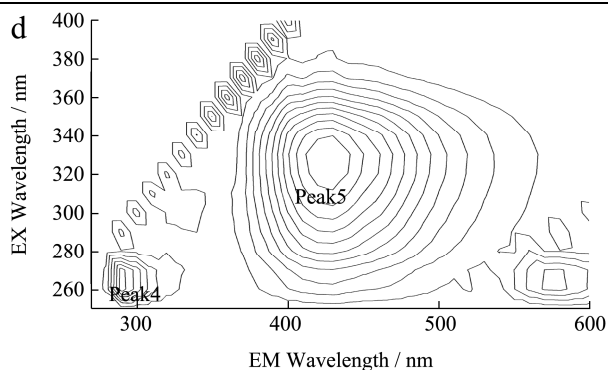


图 1 当归提取物的紫外吸收光谱和三维荧光光谱

Fig.1 Absorption spectra and three-dimensional fluorescence spectra of *Angelica sinensis* extracts

注: b 为水提取物(1.00 mg/mL), c 为 50% 甲醇提取物(0.50 mg/mL), d 为乙酸乙酯提取物(1.00 mg/mL)。

当归水提取物(1.00 mg/mL)的最大吸收峰出现在 270 nm, 并有 325 nm 的肩峰; 三维荧光光谱呈现出 3 个特征激发/发射($\lambda_{ex}/\lambda_{em}$)峰, 即 270 nm/350 nm (Peak 1)、330 nm/470 nm (Peak 2) 和 280 nm/470 nm (Peak 3) 荧光峰。50% 甲醇-水提取物(浓度 0.50 mg/mL)的紫外吸收光谱和三维荧光光谱特征与水提取物类似, 但吸收光谱的 325 nm 吸收明显增强; 三维荧光光谱的 3 个特征激发/发射峰中, Peak 2 和 Peak 3 的荧光强度相对于 Peak 1 显著增强。结果表明, 当归水提取物与 50% 甲醇-水提取物的荧光物质成分组成相近, 但后者形成 475 nm 发射峰 (Peak 2 和 Peak 3) 的荧光物质成分含量较高。当归乙酸乙酯提取物具有完全不同于水提取物和甲醇-水提取物的吸收和发射光谱, 三维荧光光谱呈现出 2 个激发/发射特征峰, 分别是 265 nm/295 nm (Peak 4) 和 325 nm/425 nm (Peak 5) 荧光峰, 吸收和发射光谱的差异反映了脂溶性提取物具有不同的荧光物质成分。

2.2 提取条件优化

2.2.1 水提取物

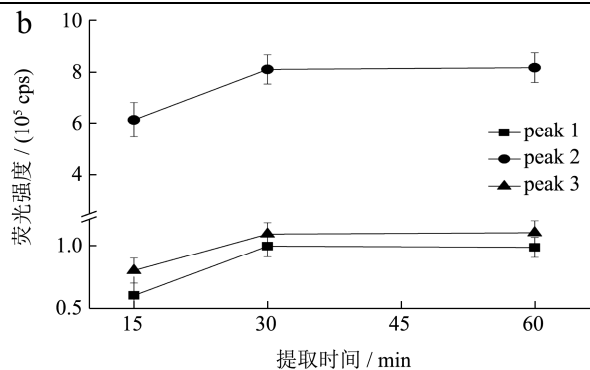
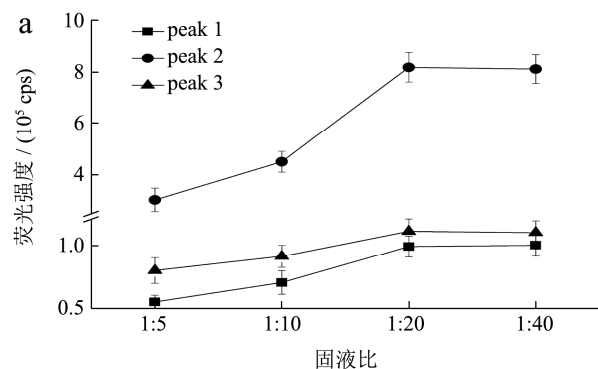


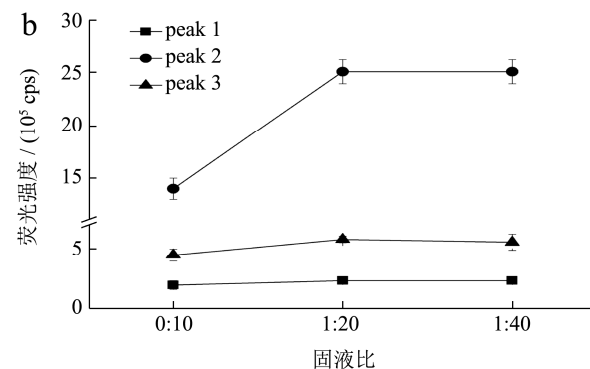
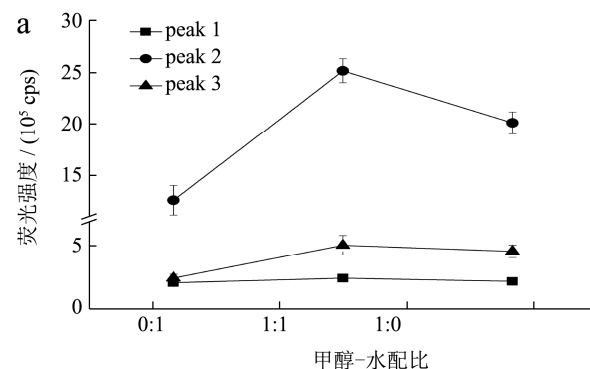
图 2 不同溶剂用量和提取时间的当归水提取物三维荧光光谱特征峰强度变化

Fig.2 Fluorescence intensity changes of the three-dimensional fluorescence spectral characteristic peaks of *Angelica sinensis* water extract with different solvent dosage and extraction time

考察提取溶剂水的用量(固液比分别为 1:5、1:10、1:20、1:40), 提取时间(15 min、30 min、45 min)对荧光光谱影响, 结果如图 2 所示。以浓度 1.00 mg/mL 供试品溶液三维荧光光谱特征峰的相对强度来判定, 确定固液比 1:20, 提取时间 30 min 为最佳的提取条件。

2.2.2 甲醇-水提取物

考察提取溶剂甲醇-水的配比(0:1、1:1、1:0)、用量(固液比 1:10、1:20、1:40)和提取时间(30 min、45 min、60 min)的影响, 结果如图 3 所示。以浓度 0.50 mg/mL 供试品溶液三维荧光光谱特征峰的相对强度来判定, 确定甲醇-水体积比 1:1, 固液比 1:20, 提取时间 45 min 为最佳的提取条件。



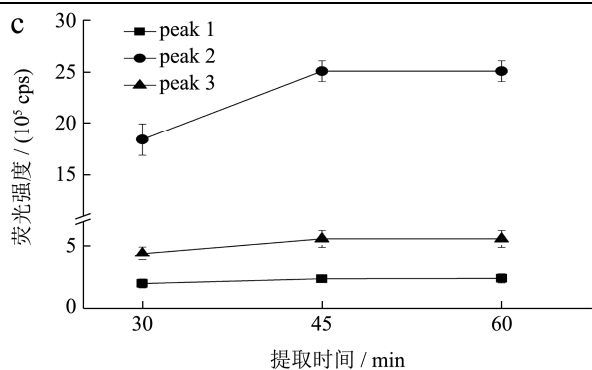


图3 不同甲醇-水配比、溶剂用量和提取时间的当归提取物三维荧光光谱特征峰强度变化

Fig.3 Fluorescence intensity changes of the three-dimensional fluorescence spectral characteristic peaks of *Angelica sinensis* extracts with different methanol-water ratio, solvent dosage and extraction time

2.2.3 脂溶性提取物

考察提取溶剂（石油醚、正己烷、乙酸乙酯）和提取时间（1 h、2 h、3 h）的影响，结果如图4所示。以浓度 1.00 mg/mL 供试品溶液三维荧光光谱特征峰的相对强度来判定，确定乙酸乙酯抽提 2 h 为最佳的提取条件。

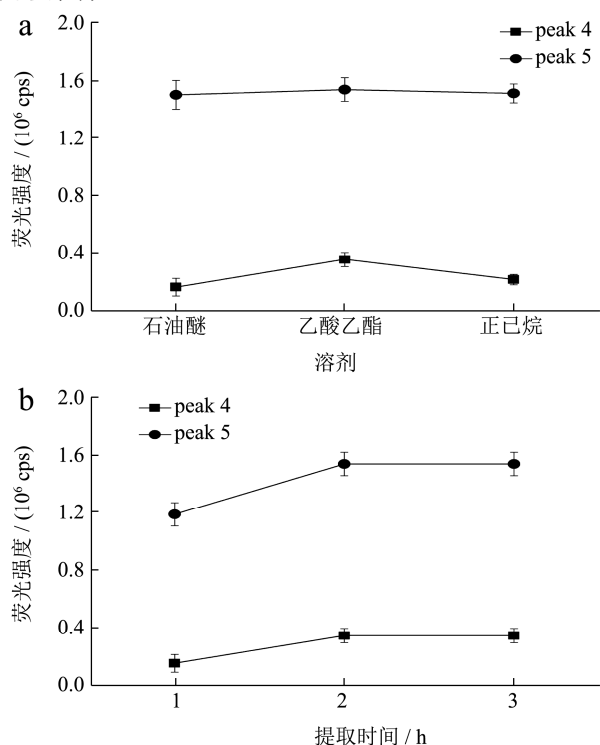


图4 不同提取溶剂和提取时间的当归脂溶性提取物三维荧光光谱特征峰强度变化

Fig.4 Fluorescence intensity changes of the three-dimensional fluorescence spectral characteristic peaks of *Angelica sinensis* fat-soluble extracts with different extraction solvent and extraction time

2.3 供试品溶液浓度的影响

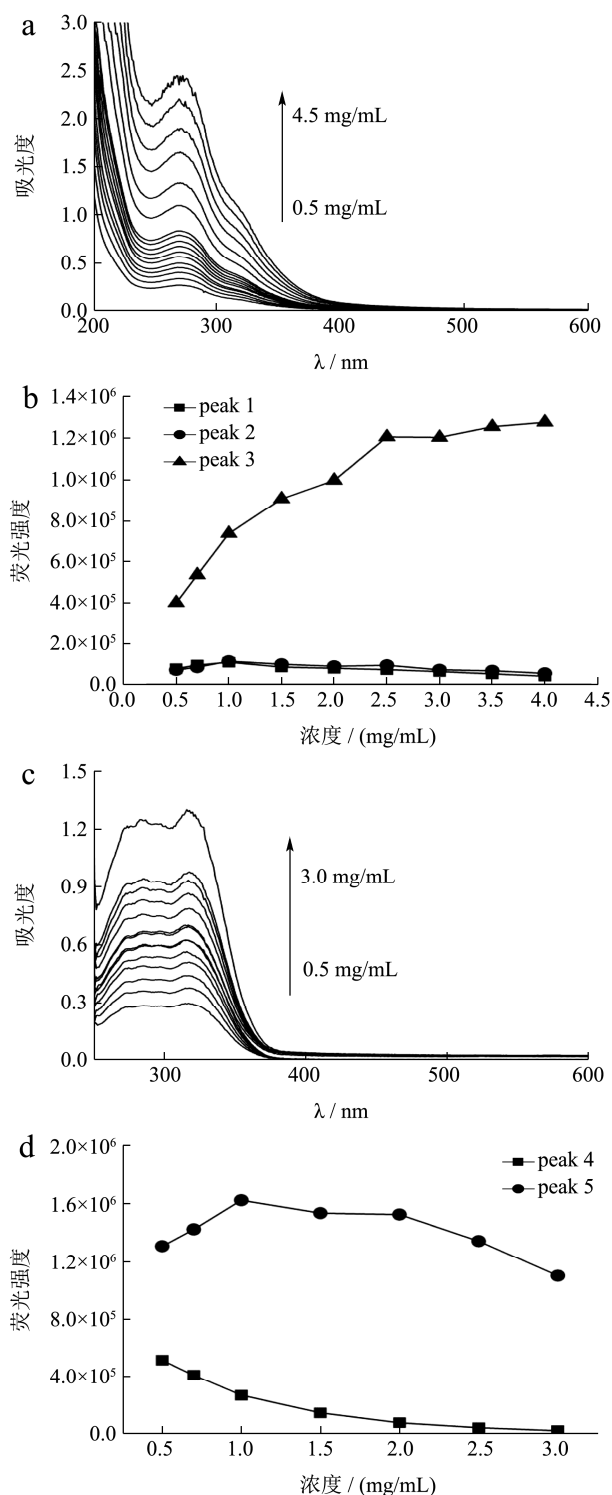


图5 不同浓度水提取物和乙酸乙酯提取物的紫外吸收光谱和荧光光谱变化

Fig.5 Absorption and fluorescence spectral changes of *Angelica sinensis* extracts under different concentration conditions

注：a、b 为水提取物；c、d 为乙酸乙酯提取物。

根据荧光分析的一般规律，稀溶液中荧光强度与荧光物质的浓度成正比，荧光物质浓度较大时会发生

自猝灭,使荧光强度降低。将当归提取物的母液配制成不同浓度的供试品溶液,考察浓度对体系紫外吸收光谱和三维荧光光谱特征峰的影响。

不同浓度的水提取物紫外吸收光谱和三维荧光光谱特征峰荧光强度变化见图 5。结果表明,在考察的浓度范围内(0.50~4.50 mg/mL),当归水提取物紫外吸收强度随浓度升高而增强;三维荧光光谱中 Peak 1、Peak 3 特征峰的荧光强度受浓度影响较小,Peak 2 荧光强度随浓度升高而逐渐增强并趋于平稳,考虑到特征峰之间荧光强度的差异以及所得三维荧光光谱图应最大限度总体反映荧光物质信息,确定供试品溶液最

佳检测浓度为 1.00 mg/mL。50%甲醇提取物的紫外吸收与三维荧光光谱特征峰发射强度随供试品溶液浓度的变化与水提取物的类似,供试品溶液最佳检测浓度为 0.50 mg/mL。

乙酸乙酯提取物的紫外吸收强度随供试品溶液浓度升高而增大;三维荧光光谱特征峰 Peak 4 的荧光强度随浓度升高而降低,特征峰 Peak 5 的荧光强度随浓度升高先增强再降低,激发波长轻微红移而发射波长位置保持不变,供试品溶液最佳检测浓度为 1.00 mg/mL。

2.4 供试品溶液酸碱度的影响

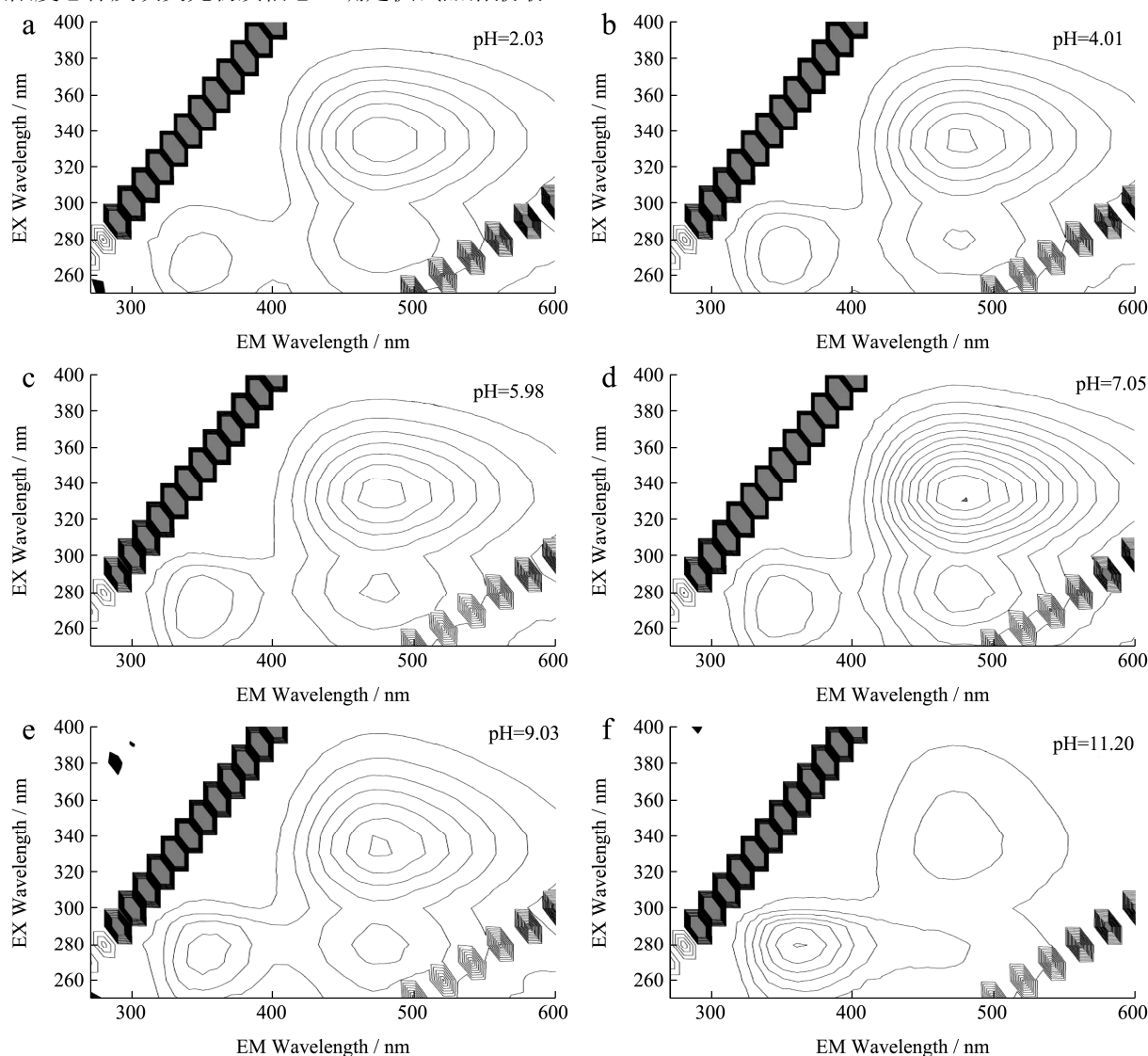


图 6 不同 pH 条件下的当归水提取物三维荧光光谱

Fig.6 Three-dimensional fluorescence spectra of *Angelica sinensis* water extract (1.00 mg/mL) under different pH conditions

重点考察了当归水提取物供试品溶液(1.00 mg/mL)的 pH 值变化对三维荧光光谱的影响,结果如图 6 所示。在 pH 2.0~7.0 范围内,Peak 1、Peak 2 和 Peak 3 特征峰的峰位置基本没有变化,荧光强度随 pH 值增加轻微增强。在 pH 7.0~12.0 范围内随 pH 的增加,

Peak 1 荧光强度明显增加且发射波长轻微红移,Peak 2 和 Peak 3 的峰位置基本不变但荧光强度明显减小,尤其在 pH 11.20 时的荧光光谱发生显著变化。不同 pH 条件下的三维荧光光谱变化表明,水提取物中的荧光组分,特别是形成 475 nm 发射峰的荧光组分的分子

结构中可能存在易于质子化和去质子化的基团,强酸性和强碱性条件对其荧光光谱有较大影响。当归水提取物供试品溶液在中性条件下呈现良好的三维荧光光谱特征。

2.5 当归三维荧光光谱的专属性

采用“1.3.1.1”的供试品制备方法,制备当归同科属植物川穹、独活、北沙参、蛇床子、小茴香的水提取物,并在相同的供试品浓度和荧光光谱分析条件下分别测定三维荧光光谱,结果如图7所示。当归与川穹的水提取物三维荧光光谱形貌非常相似,但与其他同属科中药材水提取物的三维荧光光谱在特征荧光峰的个数、位置及荧光强度等方面都存在明显差异,当

归与独活、北沙参、蛇床子、茴香可以通过水提取物的三维荧光图谱进行快速鉴别,但不能有效区分当归与川穹。这一结果表明当归与川穹的水溶性提取物的物质组成和成分含量具有高度相似性。

采用“1.3.1.3”的供试品制备方法,制备当归同科属植物川穹、独活、北沙参、蛇床子、小茴香的乙酸乙酯提取物。在相同的供试品浓度和荧光光谱分析条件下分别测定三维荧光光谱,结果如图8所示。当归与同科属植物的乙酸乙酯提取物的三维荧光光谱呈现不同的图谱形貌,特别是当归与川穹的特征荧光峰形貌及其位置和荧光强度具有显著差异,该结果表明当归与川穹的脂溶性成分存在较大差异,能够通过乙酸乙酯提取物的三维荧光图谱进行快速鉴别。

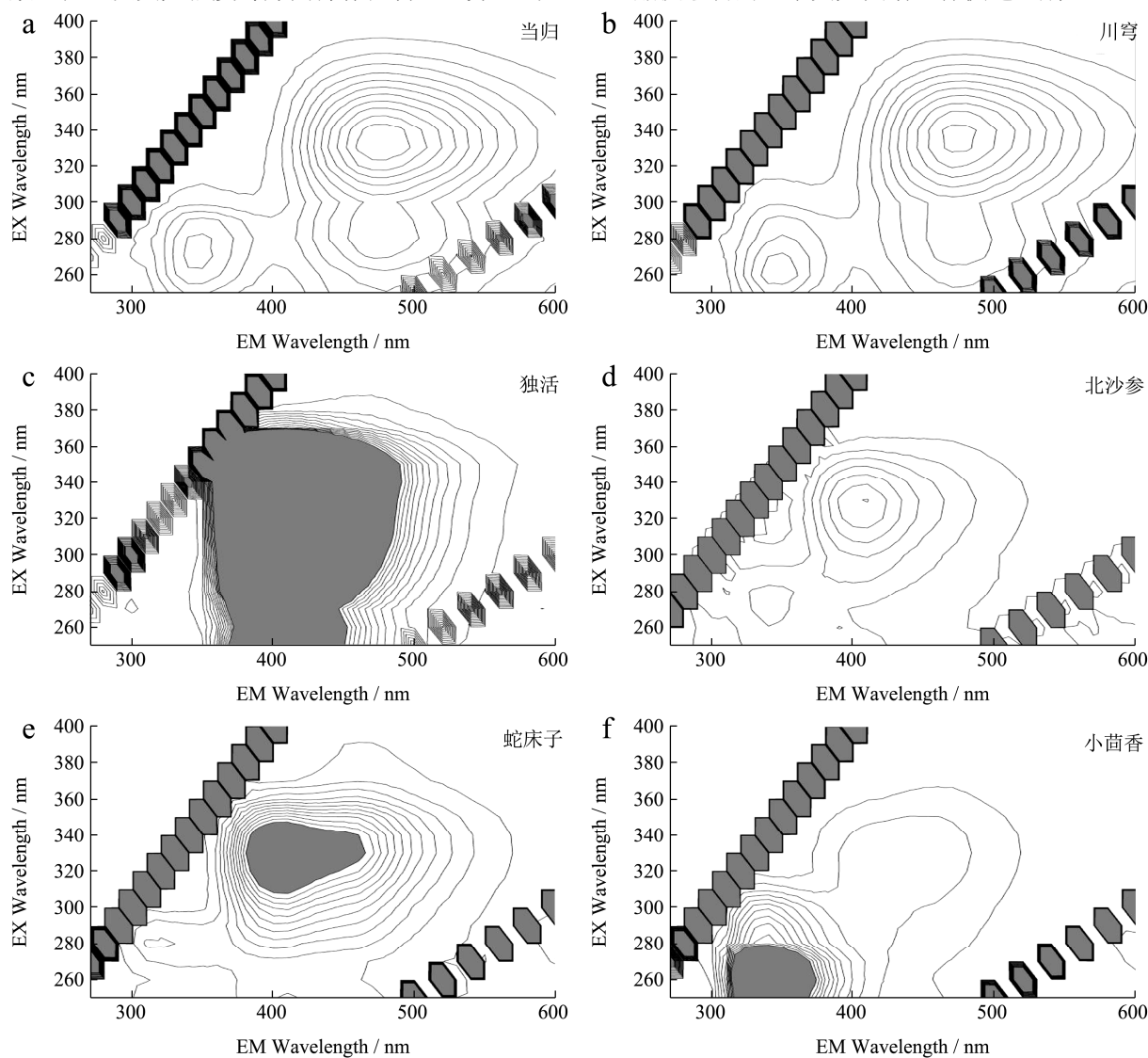


图7 当归与同科属中药材的水提取物三维荧光光谱(1.0 mg/mL)

Fig.7 Three-dimensional fluorescence spectra of the water extracts from *Angelica sinensis* and other umbelliferae plant (1.0 mg/mL)

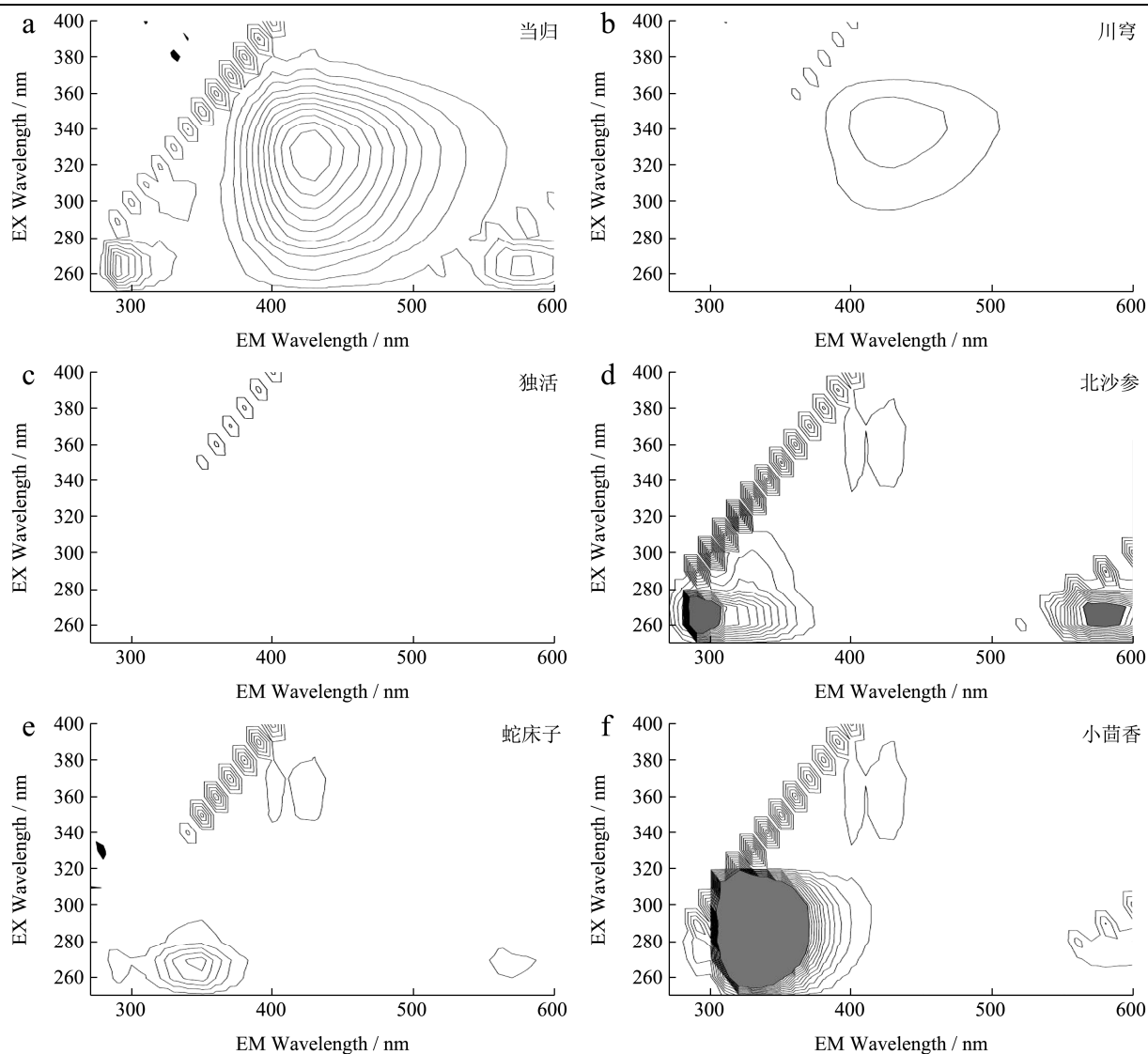


图 8 当归与同科属中药材乙酸乙酯提取物的三维荧光光谱(1.0 mg/mL)

Fig.8 Three-dimensional fluorescence spectra of the ethyl acetate extracts from *Angelica sinensis* and other umbelliferae plant (1.0 mg/mL)

表 2 判别分析结果

Table 2 Discriminant analysis results

| 样品号 | Peak 1 | Peak 2 | Peak 3 | dis_1 | Dis1_2/% | Dis2_2/% | Dis3_2/% | Dis4_2/% |
|-----|------------|-------------|------------|-------|----------|----------|----------|----------|
| 1 | 3732612.40 | 8416402.20 | 4962667.90 | 1 | 99.34 | 0.63 | 0.03 | 0.00 |
| 2 | 3131194.40 | 8130548.00 | 5460444.20 | 1 | 99.97 | 0.02 | 0.01 | 0.00 |
| 3 | 3589648.00 | 8301744.60 | 4714988.80 | 1 | 80.69 | 18.63 | 0.68 | 0.00 |
| 4 | 2817381.80 | 12258101.00 | 7870116.00 | 1 | 89.85 | 1.19 | 8.96 | 0.00 |
| 5 | 3179593.80 | 8936641.70 | 5767490.20 | 1 | 99.80 | 0.13 | 0.07 | 0.00 |
| 6 | 2553038.20 | 8437371.10 | 5638804.60 | 1 | 92.52 | 2.60 | 4.88 | 0.00 |
| 7 | 3258814.90 | 9545206.70 | 5481518.80 | 2 | 18.24 | 73.07 | 8.69 | 0.00 |
| 8 | 2425008.50 | 11744038.00 | 7484612.10 | 3 | 9.44 | 9.63 | 80.93 | 0.00 |
| 9 | 849008.90 | 3979760.90 | 2390028.40 | 4 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 100.00 |
| X1 | 2507987.20 | 12176262.00 | 7547166.20 | 3 | 2.10 | 15.34 | 82.56 | 0.00 |
| X2 | 970196.81 | 6357244.80 | 4461393.40 | 4 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 100.00 |

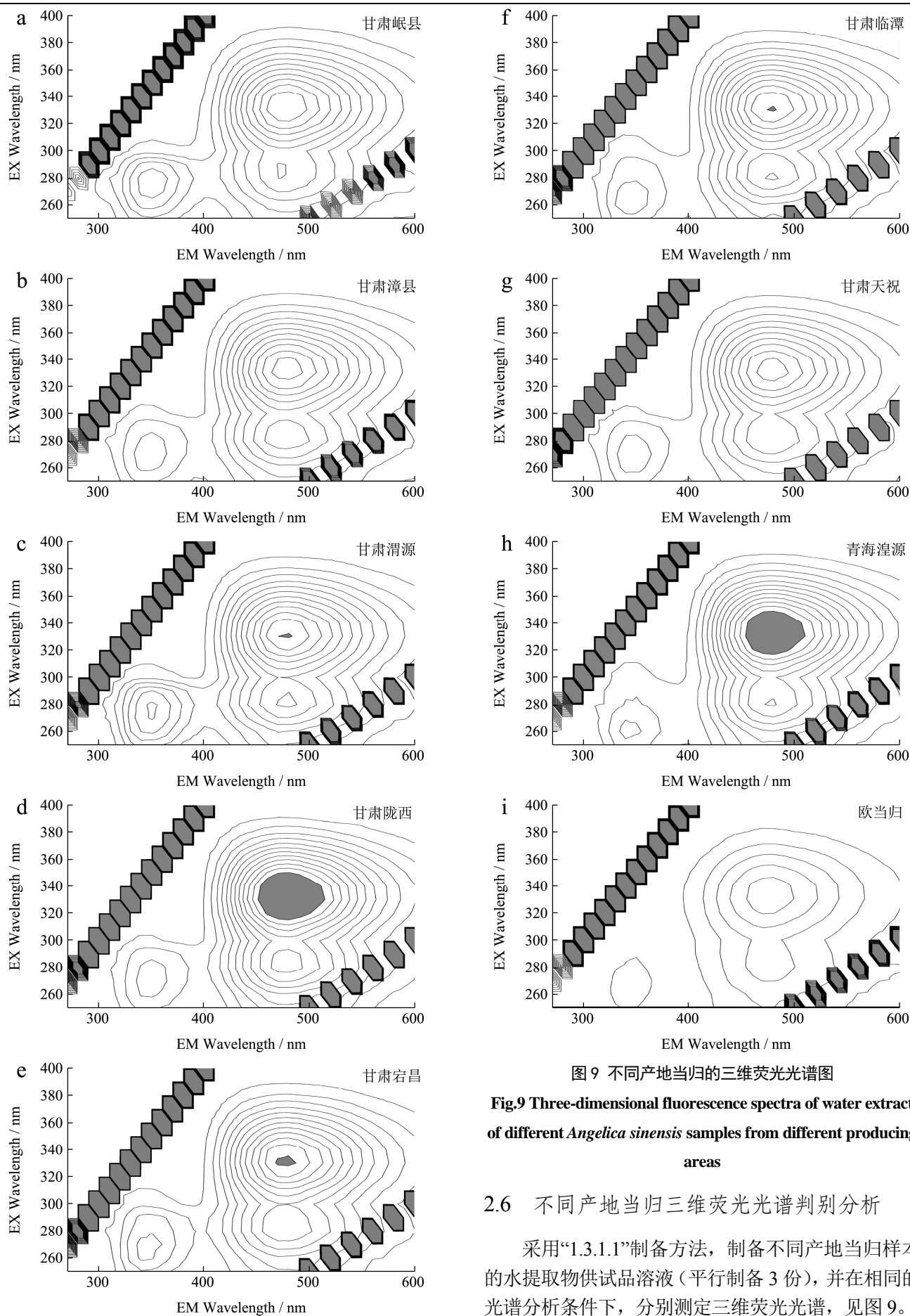


图9 不同产地当归的三维荧光光谱图

Fig.9 Three-dimensional fluorescence spectra of water extract of different *Angelica sinensis* samples from different producing areas

2.6 不同产地当归三维荧光光谱判别分析

采用“1.3.1.1”制备方法, 制备不同产地当归样本的水提取物供试品溶液(平行制备3份), 并在相同的光谱分析条件下, 分别测定三维荧光光谱, 见图9。

当归水提取物三维荧光光谱图是提取物中所有荧光组分的光谱叠加,其图谱特征是各荧光物质的总体反映,直观表现为荧光光谱的最大激发波长(λ_{ex})、最大发射波长(λ_{em})以及对应的最大发射强度(I_{em})同时变化的信息。不同当归样品水提取物三维荧光光谱呈现的三个特征峰 Peak 1、Peak 2 和 Peak 3 的位置($\lambda_{ex}/\lambda_{em}$)基本一致,但发射强度(I_{em})以及特征峰之间的相对强度存在差异。提取荧光光谱图的特征信息 λ_{ex} 、 λ_{em} 和 I_{em} ,以各当归样品特征峰 Peak 1、Peak 2 和 Peak 3 对应的荧光强度 I_{em} (三次平行测定的平均值)为变量,建立判别函数,采用 SPSS 22 软件进行数据处理和判别分析。判别分析结果见表 2。

表中 dis_1 为执行判别分析后系统对样品的分类,dis1_2、dis2_2、dis3_2、dis4_2 分别对应于各个数据被判定为第 1 类、第 2 类、第 3 类、第 4 类的概率,用于评价判别结果的准确性。判别分析结果将实验的当归样本分为四类,甘肃岷县、漳县、渭源县、陇西县、宕昌县和临潭县的当归样本判别为第 1 类;甘肃天祝当归、青海湟源当归和欧当归分别被判别为第 2、3 和 4 类。表明采用荧光光谱特征值结合此判别方法可以快速有效的区分不同当归样品,分类结果反映了当归种植环境和品种对品质的影响。其中,甘肃岷县、漳县、渭源县、陇西县、宕昌县和临潭县的地理位置和气候条件最相近,也是中药当归的传统道地产区,质量具有一致性。此外,盲样 X1 和 X2 加入上述数据系统中进行判别分析,分别被归类为第 3 类和第 4 类,即青海湟源当归和欧当归,与实际样品情况完全一致。

3 结论

3.1 研究建立的当归特征提取物的三维荧光光谱呈现出特征光谱形貌,能够总体反映提取物中荧光物质信息。当归水提取物与 50% 甲醇提取物的三维荧光光谱具有相同的特征荧光峰,但特征荧光峰相对强度存在明显差异,表明了这两种提取物中荧光组分含量存在差异。脂溶性提取物具有完全不同于水提取物和 50% 甲醇提取物的三维荧光光谱特征,表明其不同的荧光物质组成。当归水提取物和乙酸乙酯提取物的三维荧光光谱具有良好的专属性,能够实现当归与其同科属常用中药材的快速有效鉴别。与紫外光谱、红外光谱、高效液相色谱等分析方法相比较,在最佳提取条件下,当归提取物三维荧光光谱反映了当归药材中荧光物质成分的整体信息,所需样品量少,方便快捷。

3.2 利用建立的当归水提取物三维荧光光谱并结合计算机模式识别方法,对不同当归样本进行检测和判别分析,实现了对不同产区和品种当归的判别分类和

质量一致性评价,为深入研究和建立当归三维荧光光谱指纹图谱质控技术提供参考。

参考文献

- [1] 李隆弟,吴亚兰,陈小康.发光分析与中药质量控制[J].分析实验室,2003,2:87-93
LI Long-di, WU Ya-lan, CHEN Xiao-kang. Quality control of traditional Chinese medicine with luminescence analysis [J]. Chinese Journal of Analysis Laboratory, 2003, 2: 87-93
- [2] 田丽平.几种中药及其有效成分的光谱性质研究[D].石家庄:河北师范大学,2008
TIAN Li-ping. Study on spectral properties of traditional Chinese medicines and effective components [D]. Shijiazhuang: Hebei Normal University, 2008
- [3] Elfrida M Carstea, John Bridgeman, Andy Baker, et al. Fluorescence spectroscopy for wastewater monitoring: a review [J]. Water Research, 2016, 95: 205-219
- [4] Ahmad S R, Reynolds D M. Monitoring of water quality using fluorescence technique: prospect of on-line process control [J]. Water Research, 1999, 33(9): 2069-2074
- [5] Kast R E, Tucker S C, Killian K, et al. Emerging technology: applications of Raman spectroscopy for prostate cancer [J]. Cancer and Metastasis Reviews, 2014, 33(2-3): 673-693
- [6] 廖紫玉,弘子姍,黄艾祥,等.基于 3D-EEM 对不同品种咖啡液指纹图谱的研究[J].食品研究与开发,2020,41(24):200-206
LIAO Zi-yu, HONG Zi-shan, HUANG Ai-xiang, et al. Study on fingerprint of different coffee liquid based on 3D-EEM [J]. Food Research and Development, 2020, 41(24): 200-206
- [7] 中华人民共和国药典[M].中国医药科技出版社,2015
Pharmacopoeia of the People's Republic of China [M]. China medicine Science and Technology Press, 2015
- [8] Li H, Kim J, Tran H N K, et al. Extract of *Polygala tenuifolia*, *Angelica tenuissima*, and *Dimocarpus longan* reduces behavioral defect and enhances autophagy in experimental models of Parkinson's disease [J]. Neuro Molecular Medicine, 2021
- [9] 宋秋月,付迎波,刘江,等.当归的化学成分研究[J].中草药,2011,42(10):1900-1904
SONG Qiu-yue, FU Ying-bo, LIU Jiang, et al. Chemical constituents from *Angelica sinensis* [J]. Chinese Traditional and Herbal Drugs, 2011, 42(10): 1900-1904
- [10] 蒋伟,王长虹,王峥涛.当归水溶性成分研究[J].中国药理学杂志,2010,45(2):101-103
JIANG Wei, WANG Chang-hong, WANG Zheng-tao.

- Water-soluble chemical constituents of *Angelica sinensis* (Oliv.) Diels [J]. Chinese Pharmaceutical Journal, 2010, 45(2): 101-103
- [11] Fan Q, Yang R, Yang F, et al. Spectrum-effect relationship between HPLC fingerprints and antioxidant activity of *Angelica sinensis* [J]. Biomedical Chromatography, 2020, 34(2)
- [12] 闫方杰,姜侠,李学成.全当归水煎液补血/活血作用的量效关系研究[J].西部中医药,2020,33(3):30-33
YAN Fang-jie, JIANG Xia, LI Xue-cheng. Study on dose-effects relationship between enriching blood and activating blood of QuanDanggui decoction [J]. Western Journal of Traditional Chinese Medicine, 2020, 33(3): 30-33
- [13] 宫文霞,周玉枝,李肖,等.当归抗抑郁化学成分及药理作用研究进展[J].中草药,2016,47(21):3905-3911
GONG Wen-xia, ZHOU Yu-zhi, LI Xiao, et al. Research progress in antidepressive active ingredients and pharmacological effects of *Angelicae sinensis* radix [J]. Chinese Traditional and Herbal Drugs, 2016, 47(21): 3905-3911
- [14] GUO Chun-jing, HOU Xiao-ya, LIU Yan-hui, et al. Novel Chinese *Angelica* polysaccharide biomimetic nanomedicine to curcumin delivery for hepatocellular carcinoma treatment and immunomodulatory effect [J]. Phytomedicine, 2020, 80: 153356
- [15] Hongyan, Zhao, Feng, et al. A fluorescence spectroscopy study of traditional Chinese medicine *Angelica* [J]. Optics & Spectroscopy, 2013, 115(4): 530-536
- [16] 崔耀耀,孔德明,孔令富,等.基于重构三维荧光光谱结合偏最小二乘判别分析的油类识别方法研究[J].光谱学与光谱分析,2020,40(12):3789-3794
CUI Yao-yao, KONG De-ming, KONG Ling-fu, et al. An oil identification method based on reconstructed 3d fluorescence spectra combined with partial least squares discriminant analysis [J]. Spectroscopy and Spectral Analysis, 2020, 40(12): 3789-3794
- [17] 张举成,陶汝同,封永珍,等.固体三维荧光指纹图谱在三七品质鉴定中的应用[J].中药材,2014,37(8):1364-1368
ZHANG Ju-cheng, TAO Ru-tong, FENG Yong-zhen, et al. Identification of *Panax notoginseng* base on solid three-dimensional fluorescence fingerprint spectra technology [J]. Journal of Chinese Medicinal Materials, 2014, 37(8): 1364-1368
- [18] Ahn S J, Kim H J, Lee A, et al. Determination of 12 herbal compounds for estimating the presence of *Angelica* Gigas root, *Cornus* fruit, *Licorice* root, *Pueraria* root, and *Schisandra* fruit in foods by LC-MS/MS [J]. Food Additives & Contaminants: Part A, 2020, 37(9): 1437-1448
- [19] Bian X, Lu Z, Kollenburg G V. Ultraviolet-visible diffuse reflectance spectroscopy combined with chemometrics for rapid discrimination of *Angelicae sinensis* radix from its four similar herbs [J]. Analytical Methods, 2020, 12(27): 3499-3507

(上接第 225 页)

- [24] Pan F, Su T J, Liu Y. Extraction, purification and antioxidation of a polysaccharide from *Fritillaria unibracteata* var. *wabuensis* [J]. Environmental Science and Pollution Research, 2018, 112: 1073-1083
- [25] Zheng Y, Zhang S, Wang Q, et al. Characterization and hypoglycemic activity of a β -pyran polysaccharides from bamboo shoot (*Leleba oldhami* Nakal) shells [J]. Carbohydrate Polymers, 2016, 144: 438-446
- [26] Xu Y, Ge R, Du J, et al. Corosolic acid induces apoptosis through mitochondrial pathway and caspases activation in human cervix adenocarcinoma HeLa cells [J]. Cancer Letters, 2009, 284(2): 229-237
- [27] Ren L, Hemar Y, Perera C O, et al. Antibacterial and antioxidant activities of aqueous extracts of eight edible mushrooms [J]. Bioactive Carbohydrates and Dietary Fibre, 2014, 3(2): 41-51
- [28] Zhao T, Mao G, Feng W, et al. Isolation, characterization and antioxidant activity of polysaccharide from *Schisandra sphenanthera* [J]. Carbohydrate Polymers, 2014, 105: 26-33