

基于岩溶地区矿山生态修复的马桑扦插育苗研究^{*}

陈 阳^{1,2}, 谢 刚^{1,2}, 李可相^{1,2}, 张蓝月^{1,2}, 肖玖军^{1,2,3▲}, 蔡 煜^{1,2}

(¹ 贵州科学院山地资源研究所, 贵州 贵阳 550001; ² 贵州省土地绿色整治工程研究中心, 贵州 贵阳 550001; ³ 贵州大学资源与环境工程学院, 贵州 贵阳 550025)

摘 要: 以期培育大量优良的马桑扦插苗木满足岩溶地区废弃矿区植物修复的需要, 采用正交试验设计和完全随机设计相结合, 探究不同外源激素种类、浓度、浸泡处理时间以及不同插穗年龄对岩溶地区废弃矿区马桑扦插育苗的影响, 采用极差分析和隶属函数法对扦插苗生长表型进行综合评价。结果表明: (1) 2年生插穗高浓度激素浸泡处理下地径和新梢基径显著高于其他处理组合, 1年生插穗中浓度激素浸泡处理下新梢高显著高于其他处理组合; (2) 1年生插穗中浓度水平的新梢高显著高于其他处理组合, 1年生插穗中等浸泡时长的新梢高显著高于其他处理组合, 2年生插穗的高浓度水平的地径显著高于其他处理组合, 2年生插穗的短浸泡时长的地径显著高于其他处理组合; (3) 从对2年生插穗高浓度激素处理组合的极差分析来看, ABT1:8000 mg/L:5 s:2a 是优选组合; (4) 54个处理组合中, ABT1:2000 mg/L:10 min:1 a 处理组合效果最好, 为 0.765, ABT1:3000 mg/L:30 min:2 a 和 NAA:100 mg/L:4 h:2 a 处理组合效果其次。研究筛选出岩溶地区废弃矿区适生马桑的较佳组合为 ABT1:2000 mg/L:10 min:1 a 和 ABT1:8000 mg/L:5 s:2 a。

关键词: 马桑扦插, 表型, 外源激素, 生态修复

中图分类号: S718.52+1.2 文献标识码: A 文章编号: 1003-6563(2025)04-0001-08

Coriaria nepalensis propagation by cutting for mine ecological restoration in karst areas^{*}

CHEN Yang^{1,2}, XIE Gang^{1,2}, LI Kexiang^{1,2}, ZHANG Lanyue^{1,2}, XIAO Jiujun^{1,2,3▲}, CAI Yu^{1,2}

(¹ Guizhou Institute of Mountain Resources, Guizhou Academy of Sciences, Guiyang 550001, China; ² Guizhou Engineering Research Center for Land Green Regulation, Guiyang 550001, China; ³ College of Resources and Environmental Engineering, Guizhou University, Guiyang 550025, China)

Abstract: In order to cultivate a large number of excellent *Coriaria nepalensis* cutting seedlings to meet the needs of vegetation restoration in abandoned mining areas in karst areas, orthogonal experimental design and completely random design were used to explore the effect of different exogenous hormone types, concentrations, soaking time and different cutting ages on *Coriaria nepalensis* propagation by cutting. Range analysis and membership function method were used to evaluate the growth phenotype of the cutting seedlings. The results show that: (1) The ground diameter and new shoot base diameter of the 2-year-old cutting seedlings treated by high-concentration hormone were significantly larger than that of other treatments, and the new shoot height of the 1-year-old cutting seedlings treated by medium-concentration hormone was significantly higher than that of other treatments. (2) The new shoot height of the 1-year-old cutting seedlings treated by medium soaking time was significantly higher than that of other treatments, and the ground diameter of the 2-year-old cutting seedlings treated by short soaking time was significantly higher than that of other treatments. (3) Range analysis of the 2-year-old cutting seedlings treated by high-concentration hormone showed that ABT1, 8000 mg/L, 5 s was the optimal combination. (4) Among the 54 treatment com-

binations, ABT1, 2000 mg/L, 10 min, 1 a had the best effect (0.765), followed by ABT1, 3000 mg/L, 30 min, 2 a and NAA, 100 mg/L, 4 h, 2 a. The best combinations for *Coriaria nepalensis* propagation by cutting in abandoned mining areas in karst areas are ATB1, 2000 mg/L, 10 min, 1 a and ABT1, 8000 mg/L, 5 s, 2 a.

Keywords: *Coriaria nepalensis* propagation by cutting, phenotype, exogenous hormone, ecological restoration

西南岩溶区脆弱敏感区域,生态系统稳定性较差,易发生石漠化。该区域的废弃矿山具有裸露面积大、生态修复难度大和成本高等问题,矿山修复主要以工农措施为主,人工修复与自然修复相结合,以修复受损生态系统^[1-2]。生态修复树种首选矿区周边适生性强的固氮乡土树种,以提高生态修复可持续性^[3]。马桑(*Coriaria nepalensis* Wall.)作为固氮能力较强的非豆科固氮灌木,能促进困难立地条件下土壤有机质增长,马桑幼苗的拦截体内,枝条和叶片的交错分布对泥沙的层层拦截十分有效,具有生长速度快、适应能力强等优点,适合在贫瘠的荒地和矿山作为先锋物种进行恢复^[4]。生态修复中植物措施一方面能通过地上部分植物体拦截降水,减缓雨滴对地面的击打,增加地表粗糙度,降低径流冲刷速度,增强泥沙沉积。另一方面植物群落主要以地表茎、枝叶等形态器官拦截泥沙形成沙堆的形式持续发挥泥沙控制作用^[5]。马桑枝条不仅多,生物量大,还呈现枝条和叶片的交错分布,近地生长特征,对泥沙的层层拦截十分有效,适合在西南地区裸露区域废弃矿山进行植物修复。同时马桑(*Coriaria nepalensis* Wall.)是西南地区乡土树种,在西南地区矿山区域有广泛分布,且经历了较为漫长的演化过程,较适应西南地区的生境条件,具有较强的抗逆性。

矿山的植物生态修复需具备植物能够快速生长,迅速成林的特征,但马桑种子直播成活率低^[6]。相比马桑种子直播育苗,扦插育苗具有繁殖系数高且稳定、操作便捷,易于规模化产业化等优点,马桑扦插育苗更适宜于西南地区裸露区域的快速生态修复。前人对马桑的扦插研究主要集中在 20 世纪 80—90 年代,反映了插穗长度、插穗年龄、ABT1 生根粉溶液浓度、不同坡位立地条件等不同处理方式对马桑扦插成活效果的影响^[7-8]。对于马桑扦插育苗的苗木地表形态研究,如扦插苗木枝条大小、形态等特征的研究鲜有报道。比如一般的扦插繁殖研究多集中于扦插是否成功,而对扦插苗生长表型的评价较少,但新梢生长量能够很好地评价扦插苗质量、生长状况^[9],对苗木的生态修复起着关键作用。

本研究以不同外源激素种类、浓度、浸泡处理时间等对马桑扦插成活及苗木地表形态为选择对象,筛选出适宜培育生态修复苗的处理因子和处理方式,以期提高适生于西南废弃矿区生态修复的扦插马桑育苗的生命力。

1 材料与方法

1.1 插床的准备

本试验基地位于贵州省贵阳市花溪区,地理坐标为 E106°27′~106°52′, N26°11′~26°34′,全区地貌以山地和丘陵为主,处云贵高原东斜坡和苗岭山脉中段,为典型的喀斯特地质地区,中亚热带季风气候区,年均气温 15.0℃,年均降水量 1104.7 mm,年均日照时数 1178.9 h,无霜期 285 天。试验基地土壤为石灰土,土层厚度在 40 cm 以上,在扦插试验前 3 天进行苗床平整、清除杂草等,并用 5% 多菌灵对试验基地土壤进行消毒,充分浇透后用黑色塑料薄膜覆盖土壤。

1.2 插穗的采集与制备

2021 年年底在贵州省贵阳市乌当区,挑选合适的扦插穗条,穗条标准为:1 年生和 2 年生的半木质化枝条且粗度大于 2 cm,母树树体中上部生长健壮、无病虫害、无机械损伤的部分作为穗条。穗条喷水保湿,及时送回实验室制备插穗。插穗标准为:截取穗条长度约 20 cm,插穗上至少保留 2~3 个芽,上切口为平口,下切口为马蹄形斜切。对插穗上切口封蜡处理,30 株插穗为 1 捆放在荫凉处并洒水待浸泡外源激素后扦插。

1.3 试验设计

本研究试验于 2021 年 12 月下旬进行。本研究试验以 1 年生和 2 年生插穗作为完全随机试验组别,每个组别分别下设高中低浓度 $L_9(3^4)$ 正交表的正交试验设计,试验因子为外源激素种类、外源激素浓度和浸泡时间,因此本试验共 $2 \times 3 \times 9 = 54$ 个处理

组合,具体设计因素和水平见表 1。试验中外源激素低浓度水平 ABC 组合记为 M1,外源激素中浓度水平 ADE 组合记为 M2,外源激素高浓度水平 AFG 组合记为 M3。在试验实施时,一个小区一个处理组合,每个处理组合 3 次重复,即 3 个小区,因此本试验共 $54 \times 3 = 162$ 个小区。每个小区 30 株插穗。

表 1 马桑扦插试验因素及水平

调节剂 编号	外源 激素种类	浓度 编号	外源激 素浓度 /(mg/L)	时间 编号	浸泡处 理时间	插穗年 龄编号	插穗年龄 /a
A1	ABT1	B1	100	C1	1 h	T1	1
A2	NAA	B2	200	C2	2 h	T2	2
A3	IBA+NAA (1:1)	B3	400	C3	4 h		
		D1	800	E1	1 min		
		D2	2000	E2	10 min		
		D3	3000	E3	30 min		
		F1	4000	G1	5 s		
		F2	8000	G2	30 s		
		F3	10000	G3	60 s		

注:ABT1 成分为 30% IAA、20% NAA、10% IBA。

1.4 扦插方法及扦插后管理

用高锰酸钾溶液对插穗基部浸泡 30 s 进行灭菌,再将 5 cm 插穗基部按上述试验设计浸泡于不同的外源激素溶液中,每个小区株行距 15 cm × 15 cm,每个小区留 30 cm 宽步道,采用直插方式,扦插深度约 15 cm,扦插后用两手按实苗床并覆土,使土壤与插穗充分接触,浇透水处理。根据试验基地大棚内的温度和湿度进行相应的保温通风和适量浇水,对大棚内土壤进行除草和防控病虫害管理。

1.5 指标调查及数据分析

2022 年 11 月末对试验进行数据采集,包括扦插成活率、地径、新梢基径、新梢高和新梢数量等指标。其中扦插成活率公式如下:

$$\text{扦插成活率}(\%) = \frac{\text{成活插穗数}}{\text{总插穗数}} \times 100\% \quad (1)$$

并测定已成活马桑扦插苗的地径、新梢基径、新梢高和新梢数量等指标,具体如下:

地径:采用游标卡尺测量成活马桑的插穗底部的粗细^[10],单位为 cm。马桑地径功能能够很好地评价马桑扦插苗的固定土壤能力和抗风能力,一般

而言,马桑地径越粗壮,马桑扦插苗的固定土壤能力和抗风能力越强。

新梢数:以成活马桑插穗长出新梢的数量为标准。马桑的近地生长特征,新梢数量多少能够很好地测算马桑扦插苗的覆地范围,评价马桑的覆绿能力。一般而言,马桑新梢数量越多,马桑的覆地范围越广。

新梢基径:采用游标卡尺测量成活马桑插穗上方的主干基部的粗细,单位为 cm。植物茎干对植株整体具有重要的支撑作用,马桑基径功能能够很好地评价马桑扦插苗的抗倒能力,是植物体拦截流泥沙的主要部分。一般而言,马桑基径越大,马桑的抗倒能力越强。

新梢高:采用直尺测量成活马桑苗木基部到苗木顶端的高度,单位为 cm。马桑新梢高功能能够很好地评价马桑扦插苗的生长状况,一般而言,马桑新梢高越高,马桑扦插苗生长越好。总之,新梢数量、新梢基径、新梢高反映了新梢生长量,一定程度上反映了马桑的体积,代表了拦截泥沙的体积量。新梢生长量能够很好地评价扦插苗质量、生长状况,也对苗木的生态修复能力起着关键作用。一般而言,新梢生长量越大,马桑的生态修复能力越强。

运用 Excel 软件对试验数据进行整理统计和极差分析,运用 SPSS 软件对试验数据进行方差分析和多重比较分析。采用隶属函数值对不同因素下的扦插苗表型进行综合评价,隶属函数计算公式为:

$$U(X_j) = (X_j - X_{\min}) / (X_{\max} - X_{\min}) \quad (2)$$

式中, X_j 为某一处理的某一指标值, $X_{\min}$ 、 $X_{\max}$ 分别为所有处理在该指标中的最小值和最大值。

2 结果与分析

2.1 不同处理组合对马桑扦插苗的生长分析

本实验中马桑扦插成活率为 26.38%。从表 2 可知,不同处理水平下地径、新梢基径和新梢高差异显著($p < 0.05$),不同处理水平下新梢数差异不显著($p > 0.05$)。2 年生插穗的高浓度水平组合的地径显著高于其他组合,2 年生插穗的低浓度水平组合的地径其次,2 年生插穗的中浓度水平组合的地径再次,1 年生插穗的高中低三个水平组合的地径显著低于其他组合。2 年生插穗的高浓度水平和低浓度水平的新梢基径显著高于其他组合,1 年生插穗的

中浓度水平、高浓度水平和 2 年生插穗的中浓度水平的新梢基径其次,1 年生插穗的低浓度水平的新梢基径显著低于其他组合。1 年生插穗的中浓度水平新梢高显著高于其他组合,1 年生插穗的高浓度水平和 2 年生插穗的中浓度水平的新梢高其次,1 年生插穗的低浓度水平和 2 年生插穗的低浓度水平及高浓度水平的新梢高显著低于其他组合。

表 2 不同处理组合下马桑扦插苗的生长情况

插穗 处理 年龄 水平	地径/cm	新梢数/枝	新梢基径/cm	新梢高/cm
T1 M1	1.554±0.225d	4.825±2.109a	0.637±0.175b	129.037±20.828b
T1 M2	1.563±0.180d	5.913±2.173a	0.734±0.192ab	148.378±28.108a
T1 M3	1.518±0.207d	4.955±1.622a	0.679±0.237ab	137.925±31.357ab
T2 M1	2.040±0.250b	5.727±2.119a	0.762±0.178a	128.529±24.632b
T2 M2	1.807±0.441c	5.725±2.353a	0.716±0.161ab	138.027±30.328ab
T2 M3	2.794±0.504a	5.996±1.913a	0.793±0.187a	128.501±32.177b

2.2 不同处理因子对马桑扦插苗生长的方差分析和多重比较

由表 3 可知,从 F 值大小来看,1 年生插穗的激素种类对生长表型的影响为:地径>新梢数>新梢高>新梢基径,1 年生插穗的激素浓度和外源激素浸泡时间对生长表型的影响为:新梢高>新梢数>新梢基径>地径。2 年生插穗的激素种类对生长表型的影响为:新梢高>新梢基径>地径>新梢数,2 年生插穗的激素浓度和浸泡时间对生长表型的影响为:地径>新梢基径>新梢高>新梢数。1 年生插穗的激素浓度水平对新梢高的影响差异显著,1 年生插穗的外源激素浸泡时间对新梢高的影响差异显著,2 年生插穗的激素浓度水平对地径的影响差异显著,2 年生插穗的外源激素浸泡时间对地径的影响差异显著。

表 3 不同处理因子对马桑扦插苗生长的方差分析

插穗年龄	生长表型	激素种类 F 值	激素浓度 F 值	浸泡时间 F 值
T1	地径	1.795	0.354	0.354
	新梢数	1.492	2.366	2.366
	新梢基径	0.049	1.521	1.521
	新梢高	0.349	3.375	3.375
T2	地径	0.184	41.467	41.467
	新梢数	0.11	0.14	0.14
	新梢基径	0.552	1.302	1.302
	新梢高	0.905	0.95	0.95

注: * 表示差异在 0.05 水平上差异显著。

从表 4 可知,1 年生插穗的激素浓度中浓度水平(800 ~ 3000 mg/L)的新梢高显著高于高浓度水平(4000 ~ 10000 mg/L)的新梢高,而高浓度水平的新梢高显著高于低浓度水平(100 ~ 400 mg/L)。1 年生插穗的中等浸泡时间(1 ~ 30 min)的新梢高显著高于短时间浸泡(5 ~ 60 s)的新梢高,而短时间浸泡的新梢高显著高于长时间浸泡(1 ~ 4 h)。2 年生插穗的激素浓度高浓度水平(4000 ~ 10000 mg/L)的地径显著高于低浓度水平(100 ~ 400 mg/L)的地径,而低浓度水平的地径显著高于中浓度水平(800 ~ 3000 mg/L)的地径。2 年生插穗的短浸泡时间(5 ~ 60 s)的地径显著高于长浸泡时间(1 ~ 4 h)的地径,而长浸泡时间的地径显著高于中浸泡时间(1 ~ 30 min)的地径。

表 4 不同处理因子对马桑扦插苗生长的多重比较

	T1	T2
激素浓度 (mg/L)	新梢高/cm	地径/cm
100 ~ 400	129.037±20.828b	2.040±0.250b
800 ~ 3000	148.378±28.108a	1.807±0.441c
4000 ~ 10000	137.925±31.357ab	2.794±0.504a
浸泡时间	新梢高/cm	地径/cm
1 ~ 4h	129.037±20.828b	2.040±0.250b
1 ~ 30min	148.378±28.108a	1.807±0.441c
5 ~ 60s	137.925±31.357ab	2.794±0.504a

注:小写字母表示因子在 0.05 水平上差异显著。

2.3 不同处理组合对马桑扦插育苗的极差分析

结合马桑扦插苗生长情况和方差分析,对 2 年生插穗 M3 处理组合的马桑扦插进行极差分析,分析结果见表 5。从表 5 可知,在影响地径的三个因素中激素浓度的极值最大,激素种类其次,浸泡时间最小,可知激素浓度对地径的影响最大,浸泡时间的影响最小,优选组合为激素种类 A1+激素浓度 F3+浸泡时间 G1;从对新梢数的影响来看,激素浓度最大,激素种类其次,浸泡时间最小,优选组合为激素种类 A1+激素浓度 F2+浸泡时间 G1;从对新梢基径的影响来看,激素种类影响最大,浸泡时间其次,激素浓度最小,优选组合为激素种类 A1+激素浓度 F2+浸泡时间 G1;从对新梢高来看,浸泡时间影响最大,激素浓度影响其次,激素种类影响最小,优选组合为激素种类 A3+激素浓度 F2+浸泡时间 G1。

表 5 不同处理因子对马桑扦插苗生长的极差分析

	激素种类	激素浓度	浸泡时间	
U1	2.945	2.289	3.080	R(地径):激素种类>激素浓度>浸泡时间 最佳组合:激素种类 A1+激素浓度 F3+浸泡时间 G1
U2	2.258	2.873	2.511	
U3	2.870	2.910	2.481	
UR	0.687	0.622	0.599	
V1	6.343	5.912	6.019	R(新梢数):激素浓度>激素种类>浸泡时间 最佳组合:激素种类 A1+激素浓度 F2+浸泡时间 G1
V2	5.144	6.472	5.323	
V3	5.836	4.939	5.981	
VR	1.198	1.533	0.696	
W1	0.847	0.753	0.837	R(新梢基径):激素种类>浸泡时间>激素浓度 最佳组合:激素种类 A1+激素浓度 F2+浸泡时间 G1
W2	0.680	0.806	0.736	
W3	0.763	0.732	0.717	
WR	0.167	0.074	0.121	
Y1	124.411	127.420	146.367	R(新梢高):浸泡时间>激素浓度>激素种类 最佳组合:激素种类 A3+激素浓度 F2+浸泡时间 G1
Y2	118.394	131.767	121.011	
Y3	128.419	112.037	103.846	
YR	10.024	19.730	42.520	

注:U1~U3、V1~V3、W1~W3、Y1~Y3,分别表示在不同水平处理下地径、新梢数、新梢基径、新梢高的均值,UR、VR、WR、YR 值表示对应参数的变动幅度。

2.4 不同处理组合对马桑扦插育苗影响的隶属函数综合分析

研究发现,不同扦插生长表型(地径、新梢数、新梢基径、新梢高等)在各处理组合中(外源激素种类、浓度和浸泡时间等)的表现存在差异,单一指标难以全面、客观地反映各组合的扦插苗生长效果,因此采用模糊数学中的隶属函数法,对 54 个处理组合的扦插苗生长效果进行综合分析^[11]。根据隶属函数公式分别计算出各处理下地径、新梢基径、新梢高和新梢数的隶属函数值,将地径、新梢基径、新梢高和新梢数进行平均得到各处理的平均隶属函数值,平均隶属函数值越大,表明该处理条件下马桑扦插的效果越好^[11]。排名前三分之一(前 18)的隶属函数值组合的育苗效果及排序见表 6。从表 6 可知,排名前 18 位的组合中,2 年生插穗占 12 个,进一步

表明 2 年生插穗为马桑扦插育苗的理想插穗年龄。各处理组合中,ABT1:2000 mg/L:10 min:1a 组合的平均隶属函数值排位第一(0.765),其新梢高和新梢数位列前三,新梢基径在所有组合中最高,为本试验中扦插育苗效果最好的组合;ABT1:3000 mg/L:30 min:2a 处理组合效果其次;NAA:100 mg/L:4 h:2a 处理组合效果次之。

表 6 各处理组合下马桑扦插的隶属函数综合分析

组合形式	组 合	地径	新梢高	新梢基径	新梢数	平均隶	排
		/cm	/cm	/cm	/枝	属函数	序
A1D2E2T1	ABT1:2000;10min;1a	1.629	164.444	0.233	9.222	0.765	1
A1D3E3T2	ABT1:3000;30min;2a	1.717	166	0.199	8.455	0.69	2
A2B1C3T2	NAA:100;4h;2a	2.268	141.286	0.211	8.286	0.682	3
A2D3E2T2	NAA:3000;10min;2a	1.701	162	0.211	8.2	0.677	4
A1F1G1T2	ABT1:4000;5s;2a	3	132.412	0.198	6.882	0.65	5
A1F2G2T2	ABT1:8000;30s;2a	2.753	126.188	0.188	7.75	0.629	6
A3D3E1T2	IBA+NAA(1:1):3000;1min;2a	1.463	157.9	0.168	9.3	0.629	7
A2D2E1T2	NAA:2000;1min;2a	2.118	136.875	0.244	6.875	0.618	8
A1D3E3T1	ABT1:3000;30min;1a	1.49	152.529	0.182	8.941	0.615	9
A3F2G3T2	IBA+NAA(1:1):8000;60s;2a	2.939	115.5	0.17	8.214	0.613	10
A3D1E2T2	IBA+NAA(1:1):800;10min;2a	1.706	147.438	0.171	8.75	0.598	11
A3D2E3T1	IBA+NAA(1:1):2000;30min;1a	1.558	144.333	0.177	9.111	0.596	12
A3F2G3T1	IBA+NAA(1:1):8000;60s;1a	1.529	153.75	0.213	7.417	0.585	13
A3B2C3T2	IBA+NAA(1:1):200;4h;2a	2.069	129.6	0.241	6.933	0.585	14
A3F1G2T1	IBA+NAA(1:1):4000;30s;1a	1.415	140.462	0.196	8.692	0.568	15
A2F2G1T2	NAA:8000;5s;2a	2.989	126.059	0.148	7.059	0.562	16
A1B2C2T2	ABT1:200;2h;2a	2.017	141	0.175	7.533	0.554	17
A2D3E2T1	NAA:3000;10min;1a	1.571	139.857	0.189	8.071	0.542	18

3 讨论

3.1 外源激素种类对马桑扦插育苗的影响

外源激素种类是影响植物插穗成活的重要影响因素。植物外源激素能加快新陈代谢,刺激细胞分裂,促进不定根形成,有利于插穗生根^[12]。但每种植物外源激素的作用不同,NAA 促进插穗贮存的淀粉水解为还原糖;IBA 促进植物组织的糖类物质运输,提高可溶性糖和淀粉累积水平;IAA 促进离体胚芽鞘或幼茎切段细胞的伸长生长,IAA 在极低的浓度下能促进离体根及完整根的伸长,还能促进侧根和不定根的形成^[13]。相比 NAA 和 IBA,IAA 更直接促进插穗生根成活。大多数扦插育苗研究多集中关

注于扦插是否成功,而忽略对扦插苗质量的评价。植物外源激素不仅可以有效调节树种扦插的生根率,还对扦插苗地上部分生长有显著影响^[14-16]。本研究中外源激素种类对马桑扦插苗的影响差异不显著。而陈丽英等^[17]的研究结果表明,外源激素种类对枝长有极显著的影响,但对枝条数量和枝条粗度的影响不显著。不同植物外源激素种类对木本植物扦插生根及育苗生长效果的影响存在差异。这不仅与植物本身的遗传特性有关,可能还与插条类型、环境因素等有关^[18]。总体来看,外源激素种类对马桑扦插培育生态修复苗木的影响差异不显著。

3.2 外源激素浓度对马桑扦插育苗的影响

扦插育苗中,外源激素通过改变各种内源激素水平达到动态平衡,间接诱导不定根发生和分化。植物外源激素质量浓度和浸泡时间是影响插穗组织内激素含量的重要因素^[17]。但是,植物外源激素质量浓度过高或浸泡时间过长会对插穗造成伤害,反而抑制生根^[19-21]。本研究中激素浓度对 1 年生插穗的新梢高的影响差异显著,对 2 年生插穗的地径的影响差异显著,800 ~ 3000 mg/L 的外源激素浓度水平对 1 年生插穗的影响最大,4000 ~ 10000 mg/L 的外源激素浓度水平对 2 年生插穗的地径的影响最大。张乐华对鹿角杜鹃的扦插试验表明,老叶留存数、新梢率、新梢数、新梢长 4 个指标随着外源激素浓度的升高呈先增大后减小的变化趋势,老叶留存率受外源激素浓度的影响最大并随着外源激素浓度的升高而下降^[22]。刘同对鄂西北秃杉扦插试验的研究表明,ABT1 号生根粉质量浓度对新梢高的影响显著 ($p < 0.05$),对地径的影响不显著 ($p > 0.05$)^[23]。

3.3 浸泡时间对马桑扦插育苗的影响

本研究中外源激素浸泡处理时间对 1 年生插穗的新梢高和 2 年生插穗的地径有显著影响,1 ~ 30 min 的浸泡时间的 1 年生插穗的新梢高显著高于其他处理,5 ~ 60 s 的浸泡时长的 2 年生插穗的地径显著高于其他处理。李晓欣对榆属植物嫩枝^[24],蒙真诚对波叶青牛胆^[25],赵翔对灰木莲嫩^[26]的扦插效果随时间的增加呈现先上升后下降的趋势。刘同对鄂西北秃杉扦插试验的研究表明,处理时间对地径生长量的影响显著 ($p < 0.05$),对新梢高的影响不显著 ($p > 0.05$)^[23]。本研究中,浸泡处理时间对所有

指标有显著影响,可能是由于浸泡处理时间的长短主要是改变插条中外源植物外源激素的含量,浸泡时间过短,影响插条对外源激素的吸收利用效果;浸泡处理时间过长时,插条中外源激素含量过高,对插条的生根起到一定的抑制作用^[27]。

3.4 插穗年龄对马桑扦插育苗的影响

有研究表明,很多树种扦插时的生根率会随母树年龄的增加而降低^[28]。母树年龄越小,其细胞分裂能力越强,生理活动越活跃,插穗越容易生根^[29-30]。本研究中,插穗年龄对成活率无显著影响,而插穗年龄对马桑的地径、新梢高生长指标有显著影响。洪汉辉对 1 年生、2 年生及 3 年生白杨硬枝扦插苗生长的研究表明,随插穗年龄的增大,新生苗新梢高和地径呈逐渐降低趋势^[31-32]。王笑山对日本落叶松的研究表明,7.5 年生不同整形方式母株各项调查参数都比 2.5 年生的低^[29]。可能是由于插穗年龄低,植株木质化程度低,更利于植株的分化生长。

综合来看,本研究中对外源激素和插穗年龄对马桑扦插苗地表形态的影响进行了分析,在下一步工作中应该继续完善外源激素和插穗年龄对马桑扦插苗地下形态的影响,以期更为全面地剖析外源激素等因子对马桑扦插形态构型的影响,探讨最适宜的马桑扦插方案以及马桑形态。

4 结论

综上所述,合适的外源激素种类、质量浓度和浸泡处理时间对马桑苗生长有着重要的影响因素。而每个评价因子的最大影响因素和最大影响因素值是不同的,本研究结合方差分析、极差分析和隶属函数法筛选出适宜的影响因素值和处理组合。外源激素的使用对马桑扦插地表形态具有一定的促进效果。(1) 2 年生插穗高浓度激素浸泡处理下的地径和新梢基径显著高于其他处理组合,1 年生插穗中浓度激素浸泡处理下的新梢高显著高于其他处理组合;(2) 1 年生插穗的激素浓度对新梢高的影响差异显著,1 年生插穗的浸泡时间对新梢高的影响差异显著,2 年生插穗的激素浓度对地径的影响差异显著,2 年生插穗的浸泡时间对地径的影响差异显著;(3) 1 年生插穗中浓度水平的新梢高显著高于其他处理组合,1 年生插穗中等浸泡时间的新梢高显著高于

其他处理组合,2年生插穗的高浓度水平的地径显著高于其他处理组合,2年生插穗的短浸泡时长的地径显著高于其他处理组合;(4)从对2年生插穗高浓度激素处理组合的极差分析来看,激素种类 A1+激素浓度 F2+浸泡时间 G1 是优选组合;(5)54 个处理组合中,ABT1:2000 mg/L:10 min:1a 处理组合效果最好,为 0.765,ABT1:3000 mg/L:30min:2a 和 NAA:100 mg/L:4 h:2a 处理组合效果其次。研究筛选出岩溶地区废弃矿区适生马桑的较佳组合为 ATB1:2000 mg/L:10 min:1 a 和 ABT1:8000 mg/L:5 s:2 a。

参考文献【REFERENCES】

- [1] 张绍良,米家鑫,侯湖平,等. 矿山生态恢复研究进展——基于连续三届的世界生态恢复大会报告[J]. 生态学报,2018,38(15):5611-5619.
- [2] 杨博宇,白中科. 试论矿区生态保护修复中的弹性思维[J]. 中国农业大学学报,2022,27(1):212-221.
- [3] 付登高,何锋,郭震,等. 滇池流域富磷区退化山地马桑-蔗茅植物群落的生态修复效能评价[J]. 植物生态学报,2013,37(4):326-334.
- [4] 肖玖军,赵晓朋,陈阳,等. 干热冲击处理对石漠化环境适生树种马桑种子萌发特性的影响[J]. 北方园艺,2022(16):76-82.
- [5] 吴建召,陈爱民,崔羽,等. 干热河谷常见植物地表形态特征与泥沙拦截的关系[J]. 应用与环境生物学报,2018,24(6):1236-1246.
- [6] 王庆华,周洪昌. 马桑播种育苗及移植试验初报[J]. 云南林业科技,1994(2):27-29.
- [7] 杨绍广,彭运吉,石远定,等. 马桑硬枝扦插育苗试验[J]. 湖南林业科技,1996(3):45-47.
- [8] 姚元义,朱涛. 马桑硬枝扦插造林[J]. 陕西林业科技,1990(3):61.
- [9] 陈丽英,祁树安,王开芳,等. 激素种类、浓度及浸泡时间对红榉扦插育苗的影响[J]. 山东农业科学,2018,50(8):72-76.
- [10] 安霖钰,李洁. 生态修复树种马桑的埋条繁殖研究[J]. 绿色科技,2023,25(7):99-103.
- [11] 张乐华,王书胜,单文,等. 基质、激素种类及其浓度对鹿角杜鹃扦插育苗的影响[J]. 林业科学,2014(3):45-54.
- [12] 陈春桦,陈雪梅,杨治华,等. 外源激素处理对三峡消落带落羽杉扦插生根的影响[J]. 生态学报,2021,41(21):8635-8642.
- [13] 张阳锋,任征,林明平,等. 不同激素种类及浓度对红厚壳嫩枝扦插育苗的影响[J]. 热带作物学报,2020,41(11):2183-2189.
- [14] 周修任,张兆沛,孟丽,等. 外源激素和插穗种类对海州常山硬枝扦插繁殖的影响[J]. 江苏农业科学,2010(6):282-283.
- [15] 熊利权,杨德军,邱琼,等. 不同基质和激素处理对针叶樱桃嫩枝扦插生根的影响[J]. 经济林研究,2021,39(3):142-149.
- [16] 蒙真铖,陈林杨,陈鸿洁,等. 不同处理对波叶青牛胆扦插的影响[J]. 种子,2022,41(3):137-144.
- [17] 陈丽英,祁树安,王开芳,等. 激素种类、浓度及浸泡时间对红榉扦插育苗的影响[J]. 山东农业科学,2018,50(8):72-76.
- [18] 陈庆生,周鹏,张敏,等. 激素和插穗处理对乌饭树扦插生根的影响[J]. 东北林业大学学报,2016,44(4):41-43.
- [19] 张杰,李健康,段安安,等. 不同质量浓度 NAA、IBA 对栓皮栎、蒙古栎黄化嫩枝扦插生根的影响[J]. 北京林业大学学报,2019,41(7):128-138.
- [20] 杨庆春,李国雷. 不同植物生长调节剂对栓皮栎嫩枝扦插的影响[J]. 东北林业大学学报,2017,45(6):12-16.
- [21] 陈来贺,王妍,杨志坚,等. 不同植物生长调节剂对闽楠扦插的影响[J]. 西北农林科技大学学报(自然科学版),2020,48(11):54-62.
- [22] 张乐华,王书胜,单文,等. 基质、激素种类及其浓度对鹿角杜鹃扦插育苗的影响[J]. 林业科学,2014,50(3):45-54.
- [23] 刘同,胡倩,赵天宇,等. 鄂西北秃杉侧枝扦插试验[J]. 东北林业大学学报,2021,49(10):11-15.
- [24] 李晓欣,常金宝,柴楠,等. 不同处理对 4 种榆属植物嫩枝扦插生根的影响[J]. 中南林业科技大学学报,2018,38(5):65-69.
- [25] 蒙真铖,陈林杨,陈鸿洁,等. 不同处理对波叶青牛胆扦插的影响[J]. 种子,2022,41(3):137-144.
- [26] 赵翔,李清莹,姜清彬,等. 不同基质和促根剂对灰木莲嫩枝扦插生根的影响[J]. 南京林业大学学报(自然科学版),2019,43(2):23-30.
- [27] 易慧琳,汪越,徐翊,等. 圆籽荷(*Apterosperma oblata*)扦插繁殖试验[J]. 生态科学,2016,35(3):184-188.
- [28] 王笑山,孙晓梅,齐力旺,等. 日本落叶松整形修剪对母株生插穗生根和扦插苗生长的影响[J]. 林业科学,2003,39(2):44-51.
- [29] 杨立学,王海南,范晶. 母株年龄和生长调节剂对俄罗斯大果沙棘嫩枝扦插生根的影响[J]. 北京林业大学学报,2011,33(6):107-111.
- [30] 卜晓婷,乔孝禄,徐晓华,等. 母树年龄、采穗时期和抑制物质对纳塔栎生根的影响[J]. 东北林业大学学报,2022,50(2):11-16.

基于网络药理学与分子对接探讨清热除痹方治疗类风湿关节炎的作用机制及实验验证*

李娜娜¹, 喻 杨¹, 张 翠¹, 罗进芳^{1,2}▲

(¹ 贵州中医药大学, 贵州 贵阳 550025; ² 贵州省高等学校中药(民族药)药性与效应研究重点实验室, 贵州 贵阳 550025)

摘要: 目的: 旨在通过网络药理学和分子对接的方法首次探究清热除痹方(QCR)治疗类风湿关节炎(RA)作用机制, 并利用体外细胞实验进行佐证。方法: 通过文献查阅和数据库检索 QCR 的主要活性成分及相关基因靶点; 利用 GeneCards 和 OMIM 数据库确定 RA 的潜在靶点基因; 将所得数据导入 Venny2.1.0 中得到交集基因; 采用 STRING 平台构建 PPI 网络图, 并借助 Cytoscape3.10.0 软件筛选出核心靶点; 使用 DAVID 数据库对其核心靶点进行富集分析, 并导入微生信平台以进行可视化展示; 利用 Cytoscape3.10.0 软件绘制 QCR-活性成分-核心靶点-通路图; 选取核心靶点与核心成分进行分子对接。最后, 利用细胞实验采用 Western blot 技术对 p-STAT3 蛋白进行测定和分析。结果: QCR 共 41 个有效成分, QCR 靶点 605 个, RA 靶点 1620 个, QCR-RA 交集基因共有 206 个, 关键靶点为 SRC、PTGS2、STAT3, 可能调节的信号通路包括 PI3k-Akt、MAPK、JAK-STAT 等信号通路, QCR 有效活性单体成分青藤碱可以抑制 p-STAT3 蛋白表达。结论: QCR 可通过抑制 STAT3 信号通路发挥抗炎和治疗 RA 的作用。

关键词: 类风湿关节炎, 清热除痹方, 分子对接, 网络药理学

中图分类号: R593 文献标识码: A 文章编号: 1003-6563(2025)04-0008-09

Action mechanism of Qingre Chubi Recipe in the treatment of rheumatoid arthritis based on network pharmacology and molecular docking*

LI Nana¹, YU Yang¹, ZHANG Cui¹, LUO Jinfang^{1,2}▲

(¹ Guizhou University of Traditional Chinese Medicine, Guiyang 550025, China; ² Key Laboratory of Property & Effect of Chinese Medicine(Ethnic Medicine) of Colleges and Universities of Guizhou Province, Guiyang 550025, China)

Abstract: In this study we explored the mechanism of Qingre Chubi Recipe(QCR) in the treatment of rheumatoid arthritis(RA) by network pharmacology and molecular docking, and proved it by cell experiment in vitro. The main

[31] 洪汉辉, 康向阳, 汪晓峰. 年龄效应对白杨硬枝扦插苗生剖结构和叶片生化指标的影响[J]. 西北植物学报, 2018, 38(2): 274-281.

[32] NEGISHI N, NAKAHAMA K, URATA N, et al. Hormone level analysis on adventitious root formation in *Eucalyptus globulus*[J]. New forests, 2014, 45: 577-587.

基金项目: 贵州省科技支撑计划项目(黔科合支撑[2021]一般 173 号、黔科合支撑[2023]一般 048 号); 贵州省基础研究计划资助项目(黔科合基础-ZK[2022]一般 276 号、黔科合基础-ZK[2023]一般 231 号); 贵州科学院青年科技发展项目(黔科院 J 字[2024]21 号、黔科院 J 字[2024]22 号)。

作者简介: 陈 阳(1988-), 助理研究员, 从事土地资源可持续利用工作。

▲ **通讯作者:** 肖玖军, 高级工程师, 从事土地资源及农业信息化研究工作。

收稿日期: 2024-07-31; 修回日期: 2024-08-12

active components and related gene targets of QCR were obtained by literature and database search, and the potential target genes of RA were identified by using GeneCards and OMIM databases. The data was imported into Venny2.1.0 to obtain the overlapping genes. The PPI network graph was constructed by using STRING platform. The core targets were selected by using Cytoscape3.10.0. The targets were enriched and analyzed through DAVID database. Cytoscape3.10.0 was used to draw the QCR active components-core targets-pathways network diagram. The core targets and the core components were selected for molecular docking. At last, the p-STAT3 protein was detected and analyzed by Western blot. There were 41 QCR active components, 605 QCR targets, 1620 RA targets and 206 QCR-RA overlapping genes. The key targets were SRC, PTGS2 and STAT3. The signaling pathways that may be regulated included PI3k-Akt, MAPK, JAK-STAT, etc. Sinomenine, an active monomer of QCR, could inhibit the expression of p-STAT3 protein. In conclusion, QCR may play an anti-inflammatory and anti-RA role by inhibiting STAT3 signaling pathway.

Keywords: rheumatoid arthritis, Qingre Chubi Recipe, molecular docking, network pharmacology

类风湿关节炎是一种慢性自身免疫性疾病^[1]。随着中医药研究的深入,其在治疗 RA 的特色逐渐显露,治疗 RA 的质量也在不断提高^[2]。中医学将类风湿关节炎列为“痹症”的范畴,也有其他名称如“风湿痹”和“痛风”等^[3]。目前,西医治疗 RA 的不良反应明显、价格昂贵等因素限制了其应用^[4]。而中医药治疗 RA 时可有效缓解病情症状、预防疾病复发以及控制病情发展。

清热除痹方(Qingre Chubi Recipe, QCR)具有温通经络、祛风除湿、清热解毒的功效,可能通过调节机体免疫功能,减轻炎症反应,从而达到改善关节症状的效果^[5-6]。然而,目前对于其在 RA 治疗中的具体作用机制和临床应用效果的研究还相对有限。由于中药具有多成分、多靶点、多通路的特点,复方研究的难度较大。网络药理学结合分子对接技术在近年来广泛应用于中药研究^[7],且目前尚未有基于网络药理学和分子对接的方法来研究 QCR 治疗 RA 机制的文章,所以本研究首次基于网络药理学和分子对接技术^[8]来初步研究验证 QCR 治疗 RA 的作用机制,再用体外细胞实验进行目标靶点的验证,初步探讨 QCR 治疗 RA 的作用机制,为 QCR 治疗 RA 提供新的科学研究依据。

1 实验材料

1.1 细胞株

RAW264.7 细胞株为小鼠巨噬细胞株,购自武汉大学的中国典型培养物保藏中心。

1.2 化合物样品

清热除痹方中主要单体化合物青藤碱(批号:RFS-Y06011801003,纯度:99.63%)购自于成都瑞芬思德丹生物科技有限公司。

1.3 主要试剂

胎牛血清(武汉普诺赛生命科技有限公司,批号:SA211028);脂多糖(美国 Sigma 公司,批号:L2880-10MG);一步法 PAGE 凝胶快速制备试剂盒(10%)(上海雅酶生物医药科技有限公司,批号:38121200);p-STAT3 抗体(沈阳万类生物科技有限公司,批号:R10182412); β -actin 抗体(圣克鲁斯生物技术有限公司,批号:sc-47778);ECL 化学发光试剂盒(杭州弗德生物科技有限公司,批号:TE0015-1/TE0015-2);二甲基亚砜(批号:710N033)、BCA 蛋白浓度测定试剂盒(批号:20220909)、5 $\times$ 蛋白上样缓冲液(批号:20220919)、RIPA 细胞裂解液(批号:CR2306035)、HRP 标记羊抗兔二抗(批号:No. 9123204001)、HRP 标记羊抗鼠二抗(批号:No. 20220829),以上均购自北京索莱宝科技有限公司;预染色蛋白 Marker VII (8-195 kDa)(批号:MPC2306048)、10 $\times$ TBST 缓冲液(批号:GC2311001)、SWE 快速高分辨电泳缓冲液(干粉)(批号:G2081-1L)、免冰浴快速转膜缓冲液(干粉)(批号:G2028-1L)、1 $\times$ PBS 缓冲液(批号:G4202-500ML)、DMEM 高糖培养基(批号:G4511-500ML)以上均购自武汉塞维尔生物科技有限公司;高效封闭液(广州赛国生物科技有效公司,批号:2208138);一抗稀释液(批号:30823230526)、二抗

稀释液(批号:22223230529)均购自上海碧云天生物技术有限公司。

2 实验方法

2.1 网络药理学初步探索

2.1.1 清热除痹方活性成分及靶点筛选

利用 TCMSP (<https://old.tcm-sp-e.com/tcm-sp.php>) 数据库筛选 QCR 中 5 味中药(穿破石^[9]等)的活性成分,设置筛选条件为 $DL \geq 0.18$, $OB \geq 30\%$ 。无数据的药物通过文献查询,在 PubChem 数据库 (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov>) 中搜寻每种药物的每个有效成分对应的 SMILES 号,并用 SwissTargetPrediction (<http://www.swisstargetprediction.ch>) 数据库预测靶点,以可能性 ≥ 0.1 对结果进行筛选,去重后得活性成分关键靶点。

2.1.2 RA 相关靶点筛选

将“Rheumatoid arthritis”作为关键词,在 GeneCards 数据库 (<https://www.genecards.org/>) 和 OMIM 数据库 (<https://omim.org/>) 中筛选与 RA 有关的靶点基因,将收集到的关于 RA 的靶点基因合并,去重和除去假阳性的结果,即为 RA 的总靶点。

2.1.3 清热除痹方主要成分基因与 RA 基因取交集筛选

将上述获得数据通过微生信-在线生物信息学分析、可视化云平台 (bioinformatics.com.cn) 来绘制韦恩图,并将 QCR 的活性成分靶点与 RA 相关的靶点基因进行匹配,得到药物与疾病交集靶点。

2.1.4 筛选核心靶点及蛋白质-蛋白质相互作用网络构建

将交集靶点输入 STRING (<https://cn.string-db.org/>) 数据库,“Organism”被选为“Homo sapiens”。隐藏游离节点,并设置置信度 ≥ 0.7 ,构建 PPI 网络,生成图并导出。用 Cytoscape3.10.0 进行可视化分析,使用插件 centiscape2.2 来计算网络的 degree、closeness 和 betweenness,将中位数设置为筛选条件,筛选出网络的核心靶点。

2.1.5 富集分析

深入研究交集靶点蛋白功能,将交集靶点导入 DAVID (<https://david.ncifcrf.gov/>) 数据库,选“OF-

FICIAL_GENE_SYMBOL”和“Gene List”,限定物种为 Homo sapiens 进行 KEGG 和 GO 富集分析。导出数据至微生信网站 (<http://www.bioinformatics.com.cn/>),可视化呈现结果。

2.1.6 药物-活性成分-靶点-通路网络图

利用 Cytoscape3.10.0 软件绘制 QCR-活性成分-核心靶点-通路图,分析活性成分和靶点的 degree、closeness、betweenness 值,从而确定主要活性成分和作用靶点。

2.1.7 分子对接

验证筛选 QCR 治疗 RA 的关键靶点基因的准确性,用 Cytoscape3.10.0 构建网络图。选择 5 个核心成分作配体,核心靶点为受体。利用 TCMSP 和 PDB 数据库获取三维结构,使用 CB-Dock2 (<https://cadd.labshare.cn/cb-dock2/php/index.php>) 进行分子对接并筛选结合能高的结果,并可视化展示。

2.2 细胞实验

2.2.1 RAW 264.7 细胞培养

(1) RAW 264.7 细胞复苏

紫外消毒超净台,并预热培养基。于超净台中,移取 4 mL 预热基础培养基至 15 mL 离心管备用。细胞冻存管 37 °C 速融后,调整细胞悬液至适宜浓度。随后,以 1200 rpm 离心 5 min,弃上清液,加入 5 mL 完全培养基(含 90% 基础培养基、10% FBS),轻柔吹打混匀,置于 37 °C、5% CO₂ 培养箱中培养。定期监测细胞增殖与生长情况,达 80% 融合度时传代,观察细胞状态及培养基状况,适时以 1×PBS 清洗或更换新鲜培养基。

(2) RAW 264.7 细胞传代

RAW264.7 细胞呈健康葡萄球状,80% 密度时更换培养基。以 1×PBS 溶液清洗后,收集细胞至 15 mL 离心管中,1200 rpm 离心 5 min。沉淀加 3 mL 完全培养基混匀,分别加入 10 mL 完全培养基和细胞悬液 1 mL 或 0.5 mL,混匀后置 37 °C、5% CO₂ 培养箱中。

(3) RAW 264.7 细胞冻存

RAW264.7 细胞生长快,需长期冷冻保存。优选代数靠前状态佳的细胞冷冻。培养结束,1×PBS 洗 2 次,4 mL 新培养基重悬,用细胞刮收集细胞后 1200 rpm 离心 5 min,留细胞沉淀。预配冻存液,装

入标记管,梯度降温至-80 ℃保存。

(4) RAW 264.7 细胞计数

细胞按照上述方法收集、离心、弃上清液后,加入适量培养基制均匀悬浮液。盖玻片上精确滴加 10 μL 细胞液,避免气泡产生,均匀覆盖计数板。显微镜计数 4 个大方格,计算每毫升密度,根据需求调整合适的细胞密度。

(5) 种板和给药方法

将 RAW264.7 细胞培养完成计数后,调整并制备浓度为 30×10^5 个/mL 的悬浮液,置于 6 孔板在 37 ℃、5% CO₂ 的环境中恒温培养 24 h。配制青藤碱(SIN)药液,按低、中、高浓度加入,1 h 后加入 1 μg/mL LPS,共培养 18 h。

实验设计 5 个组别:正常组对照组、LPS 组、LPS+ SIN 低浓度组(150 μM)、LPS+ SIN 中浓度组(300 μM)、LPS+ SIN 高浓度组(600 μM)。

提取细胞总蛋白:培养后吸干残留液体,PBS 清洗 3 次。每孔加 150 μL 裂解液,冰上裂解 20 min,刮取后在冰块上静置 20 min,4 ℃ 14000×g 离心 15 min 收集上清液。采用 1 μL 的上清液对 BCA 蛋白进行了精确量化,剩余上清液加蛋白缓冲剂,涡旋后煮沸 10 min,-20 ℃保存或进行 Western Blot 实验。

BCA 蛋白定量分析具体步骤如表 1 所示。

表 1 BCA 蛋白定量分析操作步骤

内 容	步 骤
试剂准备	BCA 试剂与 Cu 试剂 1 : 50 混匀配制工作液,限 24 h 内使用。
制作标准曲线	在 10 μL 的 BSA 标准品中加入 PBS 稀释至 100 μL,使其最终浓度为 0.5 mg/mL。然后依次向 96 孔板中加入 0 μL、2 μL、4 μL、6 μL、8 μL、12 μL、16 μL、20 μL 的标准品,并补充 PBS 至每孔总体积为 20 μL。
稀释样品	从每组中取 1 μL 的上清液,将其加入到含有 19 μL PBS 的 96 孔板里,使其稀释倍数为 20 倍。
加检测试剂	各孔加入 200 μL BCA 工作液,37℃放置 15 ~ 30 min。
检测	30 min 内测定 562 nm OD 值,依据标准曲线算蛋白浓度,调整 Western Blotting 样本量

2.2.2 蛋白免疫印迹(Western blot)

(1) 制胶

按照雅酶 PAGE 试剂盒制 10% 分离胶,固化后与浓缩胶混合,倒入玻璃板,快速插入梳子至固化。

(2) 上样

先置小玻片于电解质液,垂直移除梳子,加入染色蛋白 Marker,每孔 10 μL 取样,按组别上样。

(3) 转膜

准备 4 ℃电泳液,预活化 PVDF 膜。将蛋白凝胶转膜,调整膜位置,置入转膜装置加液浸没,内外冰袋低温转。完成后立即取出,用 1×TBST 冲洗。

(4) 封闭

PVDF 膜浸新赛美封闭液摇 25 min,取出后 1×TBST 洗涤 5 min。

(5) 一抗孵育

将处理后的 PVDF 膜置于 4 ℃的抗体孵育器里冷藏过夜,并轻摇 14 ~ 18 h。

(6) 二抗孵育

用 TBST 洗涤 3 次,每次 5 min,孵育好一抗的 PVDF 膜加入二抗孵育 1 h,再 TBST 洗涤 3 次。

(7) 分子成像

在 PVDF 膜的条带位置均匀滴加 200 μL 超敏 ECL 显色液(1 : 1),严格按生物分子成像仪指南进行成像。

(8) 统计学分析

数据用均数±标准差表示,GraphPad Prism 软件分析。单变量 ANOVA 首选,若不满足方差性,采用非参数检验, $P<0.05$ 为显著。

3 实验结果

3.1 网络药理学预测结果

3.1.1 清热除痹方活性成分及靶点

经文献查找以及 TCMSP 数据库收集得到穿破石 7 个活性成分、寻骨风 5 个活性成分、青风藤 6 个活性成分、知母 15 个活性成分、苍术 8 个活性成分,整理后 5 味药共 41 个有效成分(表 2)。通过数据库对 QCR 的潜在活性化合物靶点进行预测,共得到了 1149 个靶基因,去重、校正后得 605 个靶基因。

表 2 QCR 成分表

序号	英文名称	来源	中文名称	口服生物利用度 (DL)	类药性 (OB/%)
1	Octanal	穿破石	辛醛	19.7	0.01
2	Carveol	穿破石	香芹醇	32.5	0.03
3	Octadecanoic acid	穿破石	十八烷酸	17.83	0.14

续表 2

序号	英文名称	来源	中文名称	口服生物 利用度 OB/%	类药性 (DL) ≥ 0.18
4	Estragole	穿破石	草蒿脑	36.59	0.03
5	Cuminal	穿破石	对异丙基苯醛	38.29	0.03
6	Dibutyl phthalate	穿破石	邻苯二甲酸二丁酯	64.54	0.13
7	Hexacosane	穿破石	正二十六烷	8.21	0.31
8	Aristoloside	寻骨风	马兜铃苷	40.32	0.6
9	sitosterol	寻骨风	谷甾醇	36.91	0.75
10	9-Ethoxystyrolactone	寻骨风	乙氧基马兜铃内酯	75.17	0.73
11	9-Ethoxystyrolactam	寻骨风	乙氧基马兜铃内酰胺	68	0.72
12	Mollugin	寻骨风	大叶茜草素	42.34	0.26
13	beta-sitosterol	青风藤	β-谷甾醇	36.91	0.75
14	16-epi-Isositsirikine	青风藤	拉兹马宁碱	49.52	0.59
15	Magnograndiolide	青风藤	甘露聚糖	63.71	0.19
16	Michelenolide	青风藤	木香内酯	47.54	0.25
17	Sinomenine	青风藤	青藤碱	46.09	0.53
18	Stepholidine	青风藤	千金藤啶碱	33.11	0.54
19	(Z)-3-(4-hydroxy-3-methoxy-phenyl)-N-[2-(4-hydroxy-phenyl) ethyl] acrylamide	知母	3-(4-羟基-3-甲氧基苯基)丙酸	118.35	0.26
20	coumaroyltyramine	知母	N-对香豆酰酪胺	112.9	0.2
21	diosgenin	知母	薯蓣皂元	80.88	0.81
22	Anemarsaponin F _{qt}	知母	知母皂苷 F	60.06	0.79
23	asperglaucide	知母	灰绿曲霉酰胺	58.02	0.52
24	Hippeastrine	知母	小星蒜碱	51.65	0.62
25	Anhydroicaritin	知母	脱水淫羊藿素	45.41	0.44
26	Stigmasterol	知母	豆甾醇	43.83	0.76
27	kaempferol	知母	山柰酚	41.88	0.24
28	Icariin	知母	淫羊藿苷	41.58	0.61
29	Chrysanthemaxanthin	知母	菊黄素	38.72	0.58
30	Mangiferolic acid	知母	芒果醇酸	36.16	0.84
31	Anemarsaponin C _{qt}	知母	知母皂苷 C	35.5	0.87
32	Timosaponin B III _{qt}	知母	知母皂苷 BIII	35.26	0.87
33	Anemarsaponin E _{qt}	知母	知母皂苷 E	30.67	0.86
34	wogonin	苍术	汉黄芩素	30.68	0.23
35	2-Hydroxyisoxypentene - 2, 3 - dihydrobenzofuran - 5 - carboxylic	苍术	2-羟基异氧基-3-羟基-7-异戊烯-2,3-二氢苯并呋喃-5-羧酸	45.2	0.2
36	NSC63551	苍术	NSC63551	39.25	0.76
37	Stigmasterol 3-O-beta-D-glucopyranoside _{qt}	苍术	豆甾醇-3-O-D-葡萄糖苷	43.83	0.76

续表 2

序号	英文名称	来源	中文名称	口服生物 利用度 OB/%	类药性 (DL) ≥ 0.18
38	3β-acetoxyatractylone	苍术	3β-乙酰氧基苍术酮	40.57	0.22
39	beta-daucosterol _{qt}	苍术	β-谷甾醇	36.91	0.75
40	beta-sitosterol 3-O-glucoside _{qt}	苍术	β-谷甾醇-3-O-葡萄糖苷	36.91	0.75
41	daucosterol _{qt}	苍术	胡萝卜苷	36.91	0.76

注:经数据库查找穿破石成分中无符合类药性(DL≥0.18)的有效成分,经文献查询得以上的7个有效成分。

3.1.2 RA 相关靶点筛选

分别在 GeneCards 数据库和 OMIM 数据库中进行检索,将从 GeneCards 数据库中获取到的结果以 Score ≥ 中位数的方法进行筛选,整理去重后得到 RA 相关靶点 1620 个。

3.1.3 QCR 与 RA 取交集筛选

通过 Venn 图的绘制,得到 QCR 活性成分靶点与 RA 靶点的交集靶点共 206 个(图 1)。

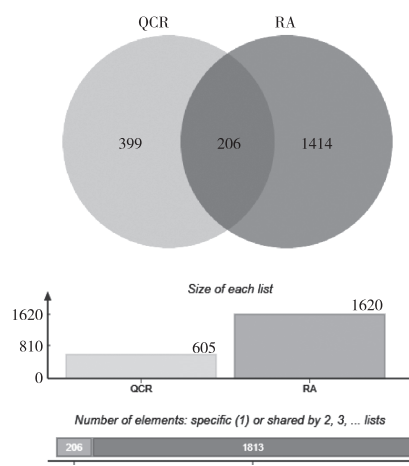


图 1 QCR-RA 靶点韦恩图

3.1.4 PPI 网络构建

将 2.1.3 中获得的交集靶点导入 STRING 数据库以构建 PPI 网络(图 2),其中图中的节点代表蛋白质,边则代表蛋白质间的互动关系。将数据导入到 Cytoscape3.10.0 软件中进行模块化的分析和处理,从而构建一个由 193 个节点和 1252 条边构成的网络结构,利用插件 centiscape2.2 对其拓扑参数进行详细分析,以该网络的 Degree ≥ 12.9740932、Closeness ≥ 0.001993721、Betweenness ≥ 325.9170984 作为筛选条件,得到 33 个核心靶点,264 条边。根据

中位数值,前3位基因分别为 SRC、PTGS2、STAT3。

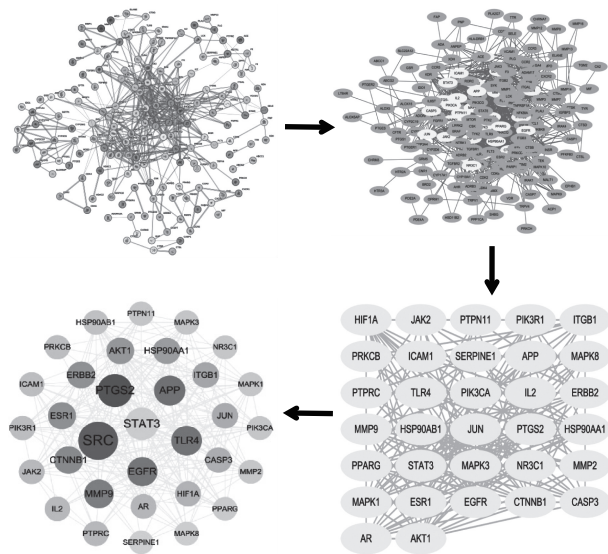


图2 核心靶点蛋白质-蛋白质相互作用(PPI)网络图

3.1.5 GO 功能富集分析和 KEGG 通路富集分析

通过 DAVID 数据库将交集靶点进行 GO 和 KEGG 富集分析。GO 富集分析显示 Biological process(BP)333 个、Cellular component(CC)53 个、Molecular function(MF)81 个。按照 Count 值降序排列,分别取 BP、CC、MF 各前 10 条 GO 富集结果绘制条形图(图 3)。在 BP 研究领域内,已确认的靶点主要关于信号传导、RNA 聚合酶 II 启动子转录的正向调控、蛋白质磷酸化过程以及基因表达层面的负调控等方面;而 CC 方面则主要涉及细胞质、质膜、胞质溶胶以及细胞核等细胞结构的参与;MF 则涵盖了蛋白结合、相同蛋白的结合、ATP 的结合、DNA 结合以及信号受体的结合功能等。KEGG 结果显示,主要与 PI3K-Akt、MAPK 以及 JAK-STAT 等信号通路密切相关,由此可见,QCR 可能通过这些通路作用于 RA(图 4)。

3.1.6 网络图的构建

运用 Cytoscape3.10.0 软件选取 QCR 中 5 味药的活性成分、靶点以及相关通路构建“QCR-活性成分-靶点-通路”网络图(图 5)。并通过软件内置的“Network Analyzer”功能进行分析计算。从而通过 RA 重要的靶点发挥治疗作用的各单味药之间以及单味药和成分之间的关联性,根据自由度值排名靠前的青藤碱(Sinomenine)、山柰酚(kaempferol)、拉兹马宁碱(16-epi-Isositsirikine)作为 QCR 核心成分。

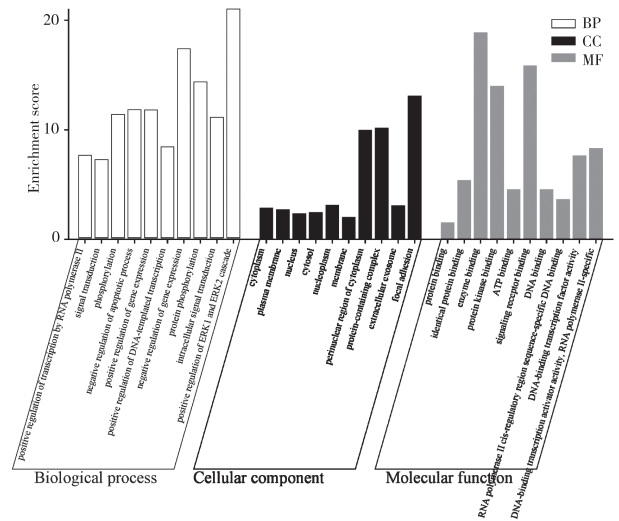


图3 核心靶点的 GO 富集分析

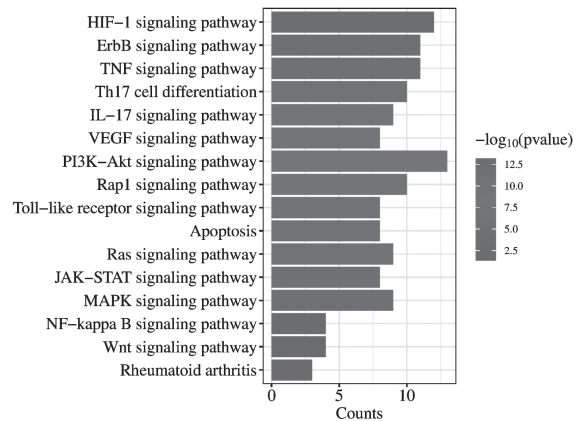
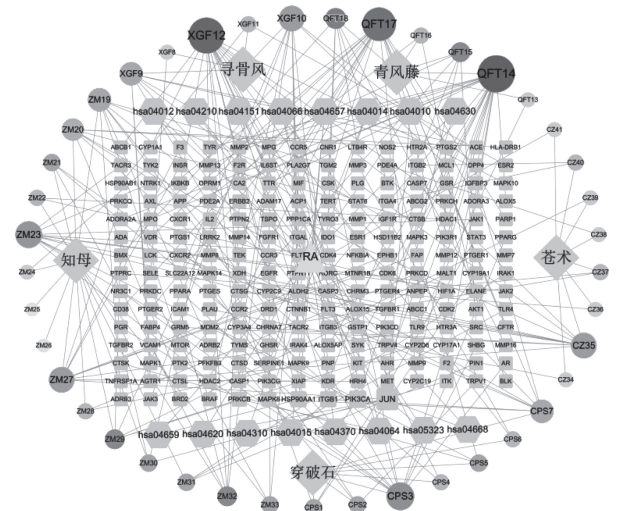


图4 KEGG 通路富集分析



注:圆形为药物活性成分,六边形为通路,方形为靶点,菱形为药物,三角形为疾病。

图5 QCR-成分-靶点-通路图

3.1.7 分子对接验证

将 QCR 的 3 个主要活性成分与 3 个核心靶点进行分子对接,对接的结果见表 3,结合能均 ≤ -7.0 kcal/mol,说明有很强的结合活性。选取青藤碱、山柰酚、拉兹马宁碱分别与 SRC、PTGS2、STAT3 进行分子对接的示意图如图 6 所示。

表 3 QCR 活性成分与 RA 核心靶点的结合能

蛋白	PBD ID	活性位点大小	活性位点坐标	化合物	对接分数
SRC	1y57	416	(16,32,42)(19,19,19)	青藤碱	-8.0
		416	(16,32,42)(19,19,19)	山柰酚	-8.4
		416	(16,32,42)(22,22,22)	拉兹马宁碱	-7.6
PTGS2	1pxx	4467	(63,37,18)(30,35,25)	青藤碱	-8.4
		4328	(20,31,80)(31,34,21)	山柰酚	-9.0
		4328	(20,31,80)(31,34,22)	拉兹马宁碱	-9.3
STAT3	6tlc	607	(14,49,66)(19,19,19)	青藤碱	-7.0
		607	(14,49,66)(21,21,21)	山柰酚	-7.2
		539	(18,27,58)(22,22,22)	拉兹马宁碱	-7.4

3.2 化合物对 RAW264.7 细胞中 p-STAT3 蛋白表达的影响

为进一步探讨 QCR 中主要有效单体化合物青藤碱的抗炎机制,采用 Western Blotting 法探究青藤碱是否通过抑制 LPS 诱导的 RAW264.7 细胞中 p-STAT3 蛋白来发挥抗炎作用。如图 7 所示,与正常组相比,LPS 刺激后的细胞中 p-STAT3 蛋白的表达量明显增加,青藤碱预处理后,中浓度和高浓度青藤碱明显抑制细胞中 p-STAT3 蛋白的表达。

4 讨论

综上所述,基于网络药理学的方法,搜集到 QCR 的活性成分共 41 个,药物靶点 605 个,RA 靶点 1620 个,其中 QCR-RA 交集基因共有 206 个。基于 PPI 网络分析,筛选出的关键靶点主要为 SRC、PTGS2、STAT3 等,其中原癌基因酪氨酸蛋白激酶 (SRC) 可在骨关节表面富集和迁移并形成密封调控破骨细胞的吸收过程^[10],SRC 激活提供的初始炎症信号,触发了核转录因子 NF- κ B 介导的炎症途径,NF- κ B 可刺激 IL-6 表达,IL-6 的激活又可促进 STAT3 的激活,以响应炎症信号^[11];前列腺素内过

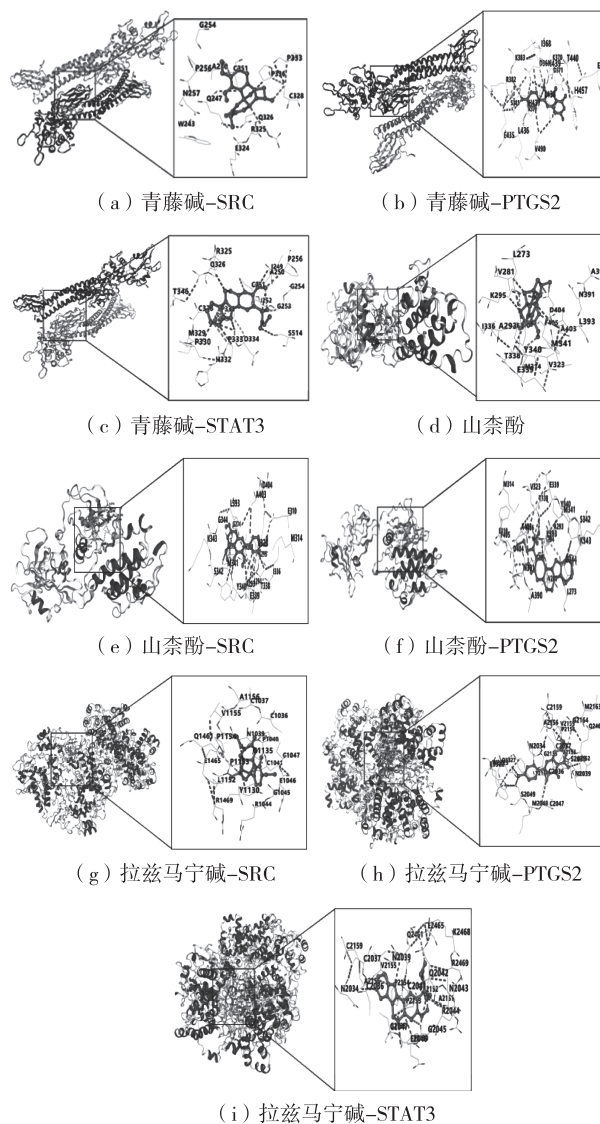
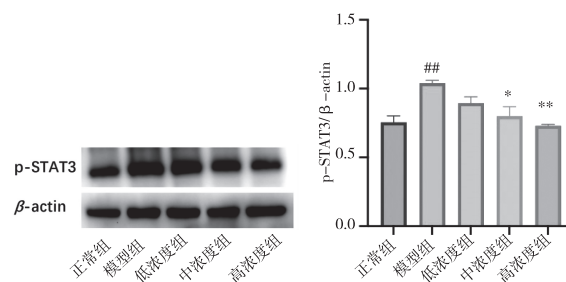


图 6 核心靶点与核心成分分子对接示意图



注: ## $p < 0.01$, 与正常组相比; * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, 与模型组相比。

图 7 青藤碱对 p-STAT3 蛋白表达的影响

氧化物合酶 2 (PTGS2) 通过促进 FLS 异常增殖和迁移, 导致骨破坏^[12], 还参与合成前列腺素, 促进炎症反应和疼痛感觉^[13], 靶向 PTGS2 治疗 RA 已被证明可以通过降低 IL-1 β 、IL-6 和 TNF- α 的水平及其

mRNA 表达来减少类风湿关节炎大鼠的炎症^[14];信号传导及转录激活蛋白 3 (STAT3) 作为多种关键代谢过程的核心调控因子,包括细胞增殖、存活、分化、自身免疫调节以及炎症反应等方面发挥着至关重要的作用^[15]。基于 Cytoscape3.10.0 软件筛选出自由度值较高的 QCR 的主要成分为青藤碱 (Sinomenine)、山柰酚 (kaempferol)、拉兹马宁碱 (16-epi-Isositsirikine) 等,其中青藤碱可以抑制 TNF- α 、IL-6 的炎症因子的表达,从而抑制炎症细胞因子的恶性循环^[16];山柰酚可调控 NF- κ B 和 MAPK 通路^[17],具有抗炎和抑制软骨细胞凋亡的作用;拉兹马宁碱可调节 COX-2 表达^[18]。基于 KEGG 分析,QCR 干预 RA 主要集中于 PI3k-Akt、MAPK、JAK-STAT 等信号通路,其中 PI3k-Akt 信号通路可减少炎症介质的产生,抑制破骨细胞分化等来防治 RA^[19];JAK/STAT 信号通路负调控因子功能失调致使该信号通路处于持续激活状态,引起 RA 患者促炎细胞因子水平显著升高^[20]。许多细胞因子通过 Janus 激酶 (Janus kinase, JAK) 以及信号转导和转录激活因子 (Signal transducer and activator of transcription, STAT) 两种途径,在 RA 的病理中发挥其作用,为 RA 中 JAK 的抑制开辟了道路^[21]。

清热除痹方由苍术、知母、青风藤、寻骨风、穿破石组成,并已经获得了国家发明专利的授权,专利号为 20111041672.1^[22]。从李国衡老先生治疗风湿病经验^[23]中得知寻骨风对治疗 RA 有较好的药理作用。通过提炼得到的寻骨风注射液,在临床上对于治疗风湿性和类风湿性关节炎有良好的止痛、消肿和关节功能改善效果^[24]。穿破石^[25]其研究的焦点是肝脏疾病和风湿病的治疗方法。药理活性主要包括抗炎活性、抗氧化活性、保肝活性、抗肿瘤活性等^[26]。青风藤^[27]主要用于治疗风湿关节痛、关节肿大等症状,其中主要的有效单体成分青藤碱对 RA 有肯定的疗效,可改善 RA 患者临床指标^[28]。知母中含有多种化学成分,包括甾体皂苷、黄酮类化合物、多糖类化合物、生物碱和类固醇等^[29]。秦聪聪等^[30]的研究表明,苍术的挥发油在消化系统、神经系统、抗炎、抗菌、抗氧化以及抗癌等多个领域都起到了关键作用。李珣等^[31]进行的一项关于 QCR 治疗膝关节慢性滑膜炎的试验中,共有 57 名患者接受了药物治疗,QCR 的总有效率高达 100%。孙旖旎等^[32]在研究中表明,清热除痹方加减与中药熏洗联合疗法在缓解湿热痹阻型 RA 患者临床症状、抑制

炎症反应、提升免疫功能方面取得了显著效果。

尽管本研究初步提供了 QCR 在 RA 治疗中作用机理的新见解,但仍需进一步的实验证明。细胞模型的研究可以验证分子对接预测的靶点相互作用,并观察到这些成分的实际治疗效果。本研究实验中实验发现,QCR 的有效单体成分青藤碱可以抑制 p-STAT3 蛋白表达,p-STAT3 蛋白是 STAT 信号通路活化的关键核心蛋白,结果初步说明清热除痹方可通过抑制 STAT 信号通路发挥抗炎作用。但是目前只验证了 STAT 信号通路,其他通路并未验证,未来将进一步验证清热除痹方对其他通路的调节作用,为清热除痹方治疗 RA 提供新的科学研究依据。

参考文献【REFERENCES】

- [1] ZHANG L, CAO Z, YANG Y, et al. Traditional Chinese medicine on treating active rheumatoid arthritis: a protocol for systematic review and meta-analysis [J]. *Medicine*, 2020, 99 (24): e20642.
- [2] PAN H, XIAO Y, WANG W, et al. Traditional Chinese medicine as a treatment for rheumatoid arthritis: from empirical practice to evidence-based therapy [J]. *Engineering*, 2019, 5 (5): 178-202.
- [3] 李露, 赵黎, 许霞, 等. 林珮琴《类证治裁》痹证诊疗特色探析 [J]. *中医药导报*, 2022, 28 (11): 144-146.
- [4] 温斌, 何春辉, 照日格图, 等. 中西医结合治疗类风湿性关节炎的临床进展 [J]. *新疆中医药*, 2023, 41 (2): 105-107.
- [5] 李明, 尚双双, 万磊, 等. 清热除痹方离子导入在活动期类风湿关节炎患者达标治疗中的应用 [J]. *安徽中医药大学学报*, 2023, 42 (3): 13-18.
- [6] 秦桂福, 梁博, 李惠玲, 等. 中西医综合治疗急性痛风性关节炎的疗效观察 [J]. *中国中医急症*, 2019, 28 (11): 2029-2031.
- [7] 李若尘, 田津, 汪鸣霄, 等. 基于网络药理学及分子对接探讨二至丸对非小细胞肺癌的作用机制 [J]. *贵州科学*, 2024, 42 (1): 33-39.
- [8] 时应兰, 李军, 成婷婷, 等. 基于网络药理学和分子对接技术探讨金钗石斛生物碱抗后发性白内障的作用机制 [J]. *贵州科学*, 2024, 42 (2): 34-40.
- [9] 梁云贞, 黄锡山. 广西龙州穿破石挥发性成分的研究 [J]. *湖北农业科学*, 2011, 50 (8): 1687-1689.
- [10] BLUML S, FRIEDRICH M, LOHMEYER T, et al. Loss of phosphatase and tensin homolog (PTEN) in myeloid cells controls inflammatory bone destruction by regulating the osteoclastogenic potential of myeloid cells [J]. *Ann rheum dis*, 2015, 74 (1): 227-233.

- [11] 黄雪梅,丁银,苟晓玲,等. 基于 UPLC-Q-ExactiveOrbitrapMS 和网络药理学研究银甲片治疗盆腔炎的有效成分及作用机制[J]. 中国现代中药,2024,26(7):1173-1185.
- [12] ZHAO X, WANG T, CAI B, et al. MicroRNA-495 enhances chondrocyte apoptosis, senescence and promotes the progression of osteoarthritis by targeting AKT1[J]. Am j transl res, 2019,11(4):2232-2244.
- [13] VAN DURME C M, WECHALEKAR M D, LANDEWE R B, et al. Non-steroidal anti-inflammatory drugs for acute gout[J]. Cochrane database syst rev,2021,12(12):CD010120.
- [14] WEI Q, LV F, ZHANG H, et al. MicroRNA-101-3p inhibits fibroblast-like synoviocyte proliferation and inflammation in rheumatoid arthritis by targeting PTGS2[J]. Biosci rep,2020,40(1):BSR20191136.
- [15] 姚安琪,陈可可,贺湘玲,等. 疑难病研究:STAT3 基因突变致免疫失调综合征[J]. 中国当代儿科杂志,2021,23(4):397-401.
- [16] 肖敬,陈艺方,李昆英,等. 青藤碱对痛风性关节炎大鼠模型滑膜组织白细胞介素-6 影响的实验研究[R]. 柳州:柳州市中医医院,2020.
- [17] PAN D, LI N, LIU Y, et al. Kaempferol inhibits the migration and invasion of rheumatoid arthritis fibroblast-like synoviocytes by blocking activation of the MAPK pathway[J]. Int immunopharmacol,2018,55:174-182.
- [18] 蔡强,向莹,岳涛. 基于网路药理学方法预测青风藤药理机制[J]. 现代中医药,2019,39(2):108-112.
- [19] 李辉明,邢涛,魏国俊,等. PI3K/Akt 信号通路在类风湿关节炎中的作用研究进展[J]. 中国骨质疏松杂志,2024,30(7):1060-1066.
- [20] 彭成,刘佩雷,陶钧,等. 急性脊髓损伤后炎症反应、自噬和凋亡相关因子的变化以及 JAK2/STAT3 信号通路研究[J]. 转化医学杂志,2021,10(2):83-88.
- [21] GUO Q, WANG Y, XU D, et al. Rheumatoid arthritis: pathological mechanisms and modern pharmacologic therapies[J]. Bone research,2018,6(2):107-120.
- [22] 孙维峰. 一种用于治疗热痹的中药组合物及其应用: CN102488825B[P]. 2013-08-07.
- [23] 奚小冰,刘涛,李飞跃. 李国衡治疗风湿病经验[J]. 中医文献杂志,2003(2):37-38.
- [24] 刘菊福,李德凤,张毅,等. 寻骨风注射液的药理作用研究[J]. 中成药,1993(1):33-34.
- [25] 国家中药管理局中华本草编委会. 中华本草[M]. 上海:上海科学技术出版社,1999.
- [26] 陈诗卉. 穿破石化学成分分析及其 CYP450 酶抑制活性研究[D]. 杭州:浙江工业大学,2020.
- [27] 曹吉慧,赵桂森,冯延江. 青风藤的化学成分与药理作用[J]. 国外医药(植物药分册),2008(2):62-66.
- [28] 姚璐莎,罗常春,张超. 盐酸青藤碱对佐剂性关节炎大鼠 NLRP3 炎性小体的影响及分子机制的研究[J]. 西部中医药,2022,35(2):11-16.
- [29] 李庆天,熊燕红,胡莉,等. 国内外知母药理研究进展[J]. 科学咨询(科技·管理),2023(2):120-124.
- [30] 秦聪聪,杜沁圆,张义敏,等. 苍术挥发油化学成分及药理作用研究进展[J]. 中成药,2023,45(6):1944-1952.
- [31] 李珣,袁普卫,康武林,等. 清热除痹方治疗膝关节慢性滑膜炎 57 例[J]. 湖南中医杂志,2016,32(4):73-74.
- [32] 孙旖旎,张皖东,章方园,等. 清热除痹方加减联合中药熏洗治疗类风湿关节炎的疗效及对炎症反应、免疫功能的影响[J]. 辽宁中医杂志,2023,50(9):141-144.

收稿日期:2024-07-17;修回日期:2024-09-02

基金项目:国家自然科学基金资助项目(No. 82160779);贵州省中医药管理局中医药、民族医药科学技术研究课题(No. QZYY-2021-012);贵州中医药大学国家与省级科技创新人才团队培育项目(贵中医 TD 合字[2022]004 号)。

作者简介:李娜(2002-),女,硕士在读,研究方向:中药抗炎免疫药理研究。

▲通讯作者:罗进芳(1989-),女,博士,副教授,研究方向:中药抗炎免疫药理研究。

贵州产凤仙透骨草薄层色谱鉴别研究

杨凡荣¹, 谭霖^{1▲}, 杜颖²

(¹黔东南苗族侗族自治州食品药品检验检测中心, 贵州 凯里 556011; ²凯里学院, 贵州 凯里 556011)

摘要: **目的:**建立贵州产凤仙透骨草薄层色谱鉴别方法,为其质量标准修订提升提供参考。**方法:**参照薄层色谱法(通则 0502),以东莨菪内酯、山柰酚为对照,对展开体系、点样量等因素考察研究。**结果:**以硅胶 G 薄层板为载体,点样量 5 μ L,以环己烷:乙酸乙酯:石油醚(60~90 $^{\circ}$ C):甲酸(4:4:2:0.3)为展开剂,5% 三氯化铝溶液为显示剂,在 365 nm 紫外灯下检视。供试品溶液与东莨菪内酯和山柰酚对照品溶液,在相同位置显相同颜色的斑点。**结论:**该方法重现性、重复性良好,斑点清晰, R_f 值适宜,分离良好,可用于贵州产凤仙透骨草定性鉴别。

关键词: 薄层色谱法, 凤仙透骨草, 东莨菪内酯, 山柰酚, 定性鉴别

中图分类号: R284.1 文献标识码: A 文章编号: 1003-6563(2025)04-0017-05

Thin-layer chromatographic identification of *Impatiens balsamina* from Guizhou

YANG Fanrong¹, TAN Lin^{1▲}, DU Ying²

(¹Qiandongnan Food and Drug Inspection and Testing Centre, Kaili 556011, China; ²Kaili University, Kaili 556011, China)

Abstract: In this study we established a thin-layer chromatographic identification method of *Impatiens balsamina* from Guizhou, so as to provide reference for the revision and improvement of its quality standard. Scopoletin and kaempferol were used as the control, and the developing system, sample volume and other factors were investigated. The method was as follows: silica gel G thin-layer plate as the carrier; sample volume 5 μ L; cyclohexane, ethyl acetate, petroleum ether (60~90 $^{\circ}$ C), and formic acid (4:4:2:0.3) as the developing agent; 5% aluminum trichloride solution as the visualization agent; examining under the ultraviolet lamp of 365 nm. The test solution and the control solution of scopoletin and kaempferol showed spots of the same color at the same position. The method has good reproducibility and repeatability, clear spots, suitable R_f value and good separation, and can be used for the qualitative identification of *Impatiens balsamina* from Guizhou.

Keywords: thin-layer chromatography, *Impatiens balsamina*, scopoletin, kaempferol, qualitative identification

0 引言

凤仙透骨草是一种典型的药用植物,为凤仙花的茎^[1],别名为指甲花,是一种常用的中草药,具祛风除湿、活血、消肿止痛的效用^[2]。凤仙透骨草中含有黄酮醇类、多肽、萜醌衍生物、甾醇等^[3],其提取液具有广谱抗菌性,可以抑制真菌和细菌的生

长^[4]。凤仙透骨草是一种根系较浅的草本植物,喜阳光和温暖,对寒冷的耐受性极差,在全国大部分地区都有种植^[5]。目前《贵州省中药材民族药材质量标准》^[6]中只收录了凤仙花。《中国药典》^[7]一部收录其种子“急性子”。迄今为止,凤仙透骨草化学成分的研究多集中在花及其种子,其茎的化学成分研究则很少^[8]。全国有 10 个省份将凤仙透骨草收录为地方标准。现有的凤仙透骨草地方标准,大部分

为性状及显微鉴别,目前仅有广东省中药材标准第三册^[9]及天津市中药饮片炮制规范 2018 年版^[10]中以山柰酚为对照品进行薄层色谱定性鉴别,江苏省中药饮片炮制规范 2020 年版^[11]中则以东莨菪内酯为对照品进行薄层色谱定性鉴别。

凤仙花在我国主要产于广西、贵州、云南、四川等省,池塘、水沟旁、田边、沼泽地或庭院、路边均可生长。经过对贵州省内民间和市场、中医院和诊所进行调查,凤仙透骨草的茎枝与花和种子作用不同,广泛用于治疗关节风湿痛、跌打损伤、散血通经、接骨、治骨梗卡喉、蛇咬伤等。目前凤仙透骨草配方颗粒已收录入《贵州省中药配方颗粒质量标准》(第四册)^[12],但贵州省中药材质量标准中却仅有凤仙花质量标准,没有凤仙透骨草的质量标准。为更好地控制贵州产凤仙透骨草质量,完善贵州省中药材民族药材质量标准修订,助推我省中医药经济发展及保障人民群众的安全有效用药,本试验拟对贵州产凤仙透骨草药材中东莨菪内酯及山柰酚两个成分进行薄层色谱定性鉴别研究。

1 材料和仪器

1.1 仪器

HH 系列 XMTD-204 型数显恒温水浴锅(江苏科析仪器有限公司),WFH-203B 暗箱式三用紫外分析仪(上海精科有限公司),DYF-500 高速中药粉碎机(温岭市林大机械有限公司),梅特勒万分之一电子分析天平(XPE205 型),KQ-500DA 型数控超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司)。

1.2 试药

石油醚、环己烷、甲酸购自天津市科密欧化学试剂有限公司,甲醇、95%乙醇购自成都金山化学试剂有限公司,乙酸乙酯购自四川西陇科学有限公司,均为分析纯。东莨菪内酯标准物质(含量 99.7%,110768-202105),山柰酚标准物质(含量 93.2%,110861-202013),均由中国检验检疫研究院提供。

1.3 材料

硅胶 G 薄层板分别来自青岛海洋化工有限公司、青岛胜海精细硅胶化工有限公司及青岛康业鑫药用硅胶有限公司。

1.4 药材

全省各地采集的 11 批药材经贵州中医药大学孙庆文教授鉴定为凤仙花科植物凤仙花 *Impatiens balsamina* L. 的干燥茎枝,其相关的凭证标本储存于黔东南苗族侗族自治州食品药品检验检测中心化学药品检验科。药材具体信息见表 1。

表 1 样品采集表

编号	来源	采集时间
Y01	遵义市仁怀市九仓镇小水村	2022.8.10
Y02	黔东南州台江县台盘乡龙井村	2022.8.11
Y03	安顺市紫云县宗地镇坝容村	2022.8.20
Y04	黔东南州天柱县翁洞镇大段村	2022.8.25
Y05	黔东南州黎平县双江镇平天村	2022.8.26
Y06	贵阳市乌当区水田镇上坝村	2022.8.28
Y07	贵阳市修文县扎佐镇小营村	2022.8.28
Y08	黔南州荔波县佳荣镇坤地村	2022.8.28
Y09	毕节市大方县对江镇元宝村	2022.9.02
Y10	黔东南州兴义市万峰林	2022.9.03
Y11	铜仁市玉屏县平溪镇马头田村	2022.9.10

2 方法与结果

2.1 供试品溶液制备

取凤仙透骨草药材适量,经粉碎机粉碎后,取药材粉末约 2 g,加甲醇 50 μ L,超声 30 min,滤过,滤液蒸干,残渣加甲醇约 1 mL 溶解,作为供试品溶液。

2.2 对照品溶液制备

称取东莨菪内酯对照品适量,加甲醇制成每 1 mL 含 0.25 mg 的对照品溶液(1)。再取山柰酚对照品适量,加甲醇制成每 1 mL 含 0.5 mg 的对照品溶液(2)。

2.3 不同展开体系选择

照(《中国药典》2020 版四部通则 0502)薄层色谱法试验^[12],取 2.1 项下样品溶液和 2.2 项下对照品溶液各约 3 μ L,点于硅胶 G 薄层板上,在下列展开体系中展开,取出,挥干,喷以 5% 三氯化铝溶液,晾干后,于紫外灯(365 nm)下检视。分别考察了甲苯:乙酸乙酯:甲酸(10:4:1)^[5]、环己烷:三氯甲烷:乙酸乙酯:甲酸(6:10:7:1.2)^[6]、环己烷:乙酸乙酯:甲酸(15:10:1)、环己烷:乙酸

乙酯:石油醚(60~90℃):甲酸(4:4:2:0.3) 4个不同展开体系。结果显示,以环己烷:乙酸乙酯:石油醚(60~90℃):甲酸(4:4:2:0.3)为展开剂的展开体系,展开 R_f 值较为合适,供试品和对照品斑点清晰,分离良好。如图1所示。

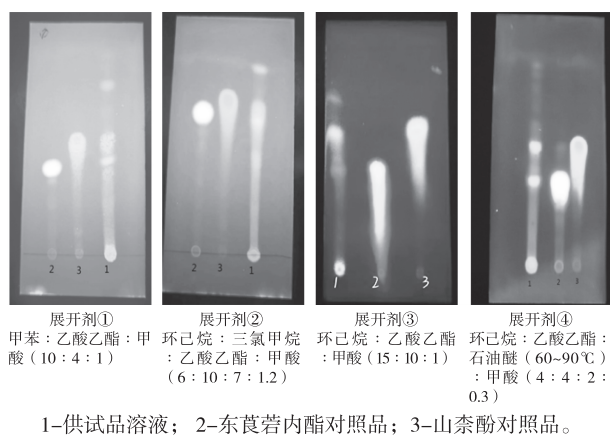


图1 各展开体系考察色谱图

2.4 点样量的考察

取同一批样品按照2.1项下方法制备供试品溶液,分别取供试品3 μL 、5 μL 、7 μL 及对照品溶液(1)和对照品溶液(2)各5 μL ,点于硅胶G薄层板上,以环己烷:乙酸乙酯:石油醚(60~90℃):甲酸(4:4:2:0.3)为展开剂展开,取出,挥干,喷以5%三氯化铝溶液,晾干后,于紫外灯(365 nm)下检视。结果显示,点样量对色谱结果影响不大,综合考虑各供试品中东莨菪内酯和山柰酚含量不一致,确定供试品和对照品点样量均为5 μL 。如图2所示。

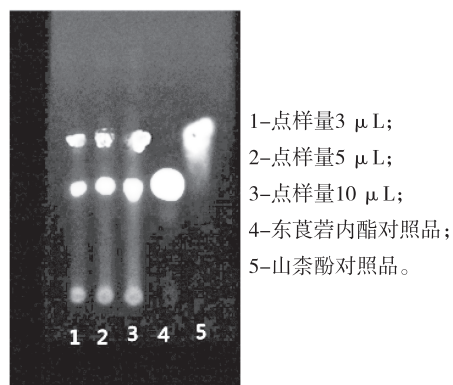


图2 点样量考察色谱图

2.5 展开系统确定

经2.3和2.4项下展开体系及点样量考察,确

定以环己烷:乙酸乙酯:石油醚(60~90℃):甲酸(4:4:2:0.3)为展开体系,点样量5 μL ,以5%三氯化铝溶液为显示剂,在紫外灯(365 nm)下检视的凤仙透骨草的薄层色谱定性鉴别方法。

2.6 考察样品稳定性

取同一批次样品按2.1项下供试品制备方法制备成放置0 h、24 h、48 h、72 h的供试品溶液,分别取供试品和对照品溶液各3 μL ,按2.5项下拟定的薄层色谱方法实验。结果显示,不同放置时间的供试品溶液展开后色谱图基本一致,表明供试品溶液的稳定性良好。如图3所示。

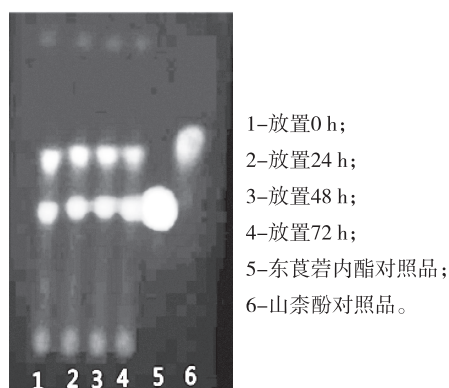


图3 稳定性考察色谱图

2.7 重现性考察

取3个样品,由不同人员在不同实验室依照2.5项下方法进行薄层色谱试验。实验员a和实验员b的实验结果无明显差异,东莨菪内酯和山柰酚均能良好分离,结果显示该方法的重现性良好。如图4所示。

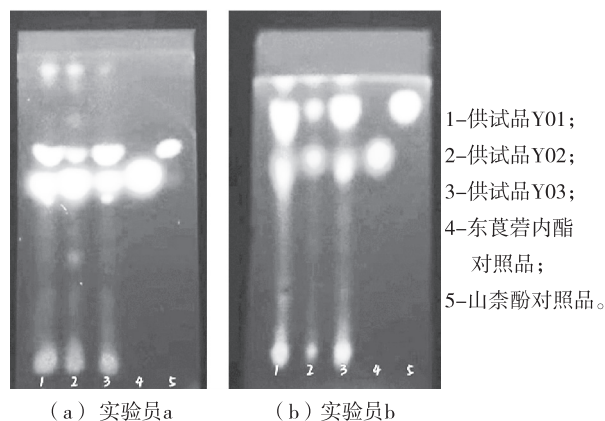
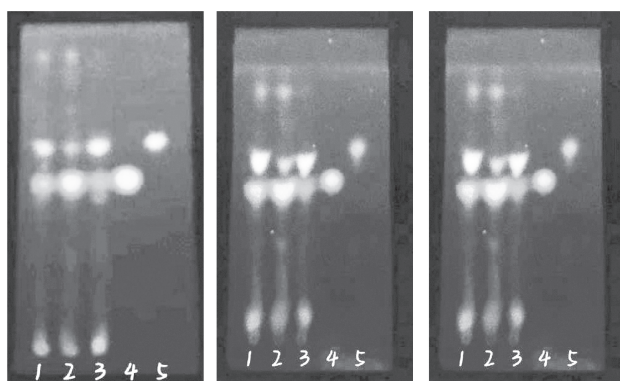


图4 重现性考察色谱图

2.8 耐用性考察

根据 2.5 项下薄层色谱实验方法,选用了 3 家不同厂家的硅胶 G 薄层板(青岛胜海精细硅胶化工有限公司(批号:20191010)、青岛海洋化工有限公司(批号:20170811)、青岛康业鑫药用硅胶有限公司(批号:20210407))进行实验,结果 3 个厂家的硅胶板展开效果基本一致,东莨菪内酯和山柰酚斑点清晰,与其他杂质峰等分离良好。说明该方法的耐用性好。如图 5 所示。

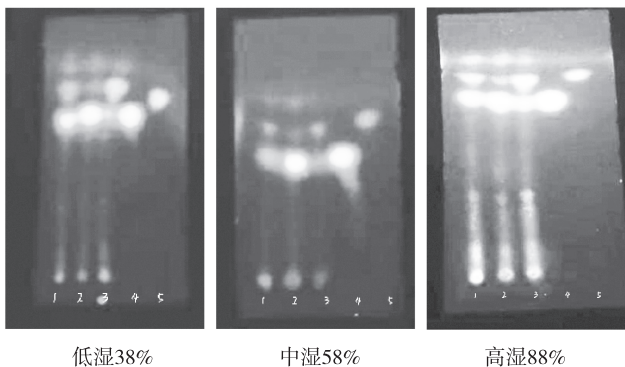


(a) 青岛海洋化工 (b) 青岛康业鑫 (c) 青岛胜海化工
1~3-供试品 Y01~Y03; 4-东莨菪内酯对照品; 5-山柰酚对照品。

图 5 耐用性考察色谱图

2.9 湿度对薄层色谱效果的影响

取同一批样品,按 2.5 项下的薄层色谱方法,在 25 ℃ 的温度下,分别模拟相对湿度 38% 的低湿、58% 的中湿及 88% 的高湿环境中进行实验,结果显示,温度过高或过低时色谱 R_f 值均上移,但整体色谱行为一致,且在上述条件下也能较好分离。如图 6 所示。



低湿38% 中湿58% 高湿88%
1~3-供试品 Y01~Y03; 4-东莨菪内酯对照品; 5-山柰酚对照品。

图 6 不同湿度考察色谱图

2.10 展开温度考察

取同一批样品,按 2.5 项下的薄层色谱方法,控制环境相对湿度为 50%,分别在 6 ℃、20 ℃ 和 35 ℃ 的温度下进行实验,结果显示,在上述温度下,色谱图 R_f 值有一定变化,但对整体色谱的影响不明显,供试品中斑点均能较好分离,斑点清晰无拖尾。如图 7 所示。

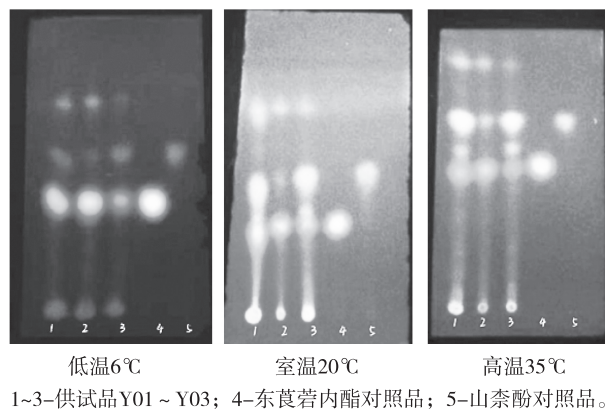


图 7 不同温度的考察色谱图

2.11 样品测定

取采集到的 11 批样品按照 2.1 项下方法进行样品溶液制备,并按照 2.5 项下拟定的薄层色谱方法实验,各批样品中东莨菪内酯和山柰酚斑点均能清晰显示,且分离良好。结果如图 8 所示。

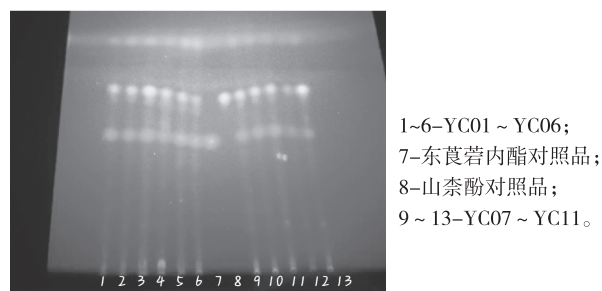


图 8 样品测定薄层色谱鉴别图

3 讨论

3.1 供试品制备方式考察

选择了超声法和回流法同步进行,超声法和回流法制备的供试品以及超声 20 min、30 min、40 min 制备的供试品,在薄层色谱图中东莨菪内酯和山柰

酚斑点颜色无明显差异;考虑操作便捷及时间成本,因此选用超声 30 min 作为供试品溶液制备方法。

3.2 展开体系选择及优化

根据《广东省中药材标准》(第三册)^[9]中凤仙透骨草薄层色谱鉴别方法,以甲苯-乙酸乙酯-甲酸(10:4:1)为展开剂,喷以 5% 三氯化铝溶液,在紫外灯(365 nm)下对凤仙透骨草中东莨菪内酯进行定性鉴别。而《贵州省中药配方颗粒质量标准》凤仙透骨草颗粒^[13]中薄层色谱鉴别方法,是以环己烷-三氯甲烷-乙酸乙酯-甲酸(6:10:7:1.2)为展开剂,在紫外灯(365 nm)下对凤仙透骨草中东莨菪内酯进行定性鉴别。考虑甲苯、三氯甲烷属于易制毒试剂,管控严格,且甲苯毒性较强,综合环保等各方面因素,对上述两个展开体系进行改良,初步确定了环己烷-乙酸乙酯-甲酸(15:10:1)为展开剂的展开体系后发现其对东莨菪内酯及山柰酚均能较好分离,但色谱图拖尾严重,进一步改良为环己烷-乙酸乙酯-石油醚-甲酸(4:4:2:0.3)为展开剂的展开体系,结果表明,环己烷-乙酸乙酯-石油醚-甲酸(4:4:2:0.3)为展开体系时,斑点清晰, R_f 值适宜,分离度良好。

3.3 结论

本次薄层定性鉴别研究对点样量、重现性、不同展开体系、耐用性、不同温湿度等均进行了考察。在不同展开温度和湿度考察中,温湿度的变化对展开 R_f 值有一定影响,但也能达到分离效果,整体色谱路径一致。建议在实际操作中,可适当对环境温湿度进行控制,以便取得更理想的实验结果。该方法能达到良好的分离效果,重现性、耐用性良好,可满足凤仙透骨草薄层色谱定性鉴别,为贵州产凤仙透骨草质量控制和评价提供依据。

参考文献【REFERENCES】

- [1] 徐波. 两种常用透骨草的形态学与功能的区别[J]. 海峡药学, 2013, 25(4): 27-28.
- [2] 国家中医药管理局. 中华本草: 5 卷[M]. 上海: 上海科技出版社, 1999: 137-138.
- [3] ZENG R, SU P L, CHEN J Y, et al. Studies on the antimicrobial characteristics of extracts from *Impatiens balsamina* L [J]. Acta agriculturae universitatis jiangxiensis, 2012, 34(2): 358-362.
- [4] CHEN C Y, CHEN Y H, PENG X, et al. Effect of *Impatiens balsamina* L. extracts on postharvest physiological relative enzymes of xinyu tangerine fruits[J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2017, 17(6): 138-144.
- [5] 湛红叶, 朱亚. 凤仙透骨草栽培与利用研究[J]. 安徽农学通报, 2020, 26(8): 20-22.
- [6] 贵州省药品监督管理局. 贵州省中药材民族药材质量标准: 第一册[S]. 2019.
- [7] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典: 一部[S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2020: 59.
- [8] 冯玉, 王璇. 凤仙花不同药用部位化学成分研究进展[J]. 山东中医杂志, 2016, 35(8): 749-753.
- [9] 广东省中药材标准: 第三册[S]. 广州: 广州科技出版社, 2018: 118-121.
- [10] 天津市食品药品监督管理局. 天津市中药饮片炮制规范(2018 年版)[S]. 2018: 98.
- [11] 江苏省食品药品监督管理局. 江苏省中药饮片炮制规范(2020 年版): 第二册[S]. 2020: 109-112.
- [12] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典: 四部[S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2020: 59.
- [13] 贵州省中药配方颗粒质量标准: 第四批[S]. 2021.

收稿日期: 2024-06-21; 修回日期: 2024-08-05

作者简介: 杨凡荣(1989-), 女, 苗族, 主管药师, 现就职于黔东南州食品药品检验检测中心, 从事药品检验检测及质量分析工作。

▲通讯作者: 谭霖(1980-), 男, 苗族, 副主任药师, 现就职于黔东南州食品药品检验检测中心, 从事中药、中成药检验检测及质量研究工作。

基于网络药理学和分子对接技术探讨金钱草抗炎活性机制^{*}

欧晓华, 罗乐妍, 张素中, 陈锐娥, 姚小丽, 付 裕, 罗 兰[▲]

(广州新华学院 药学院, 广东 广州 510520)

摘 要: 目的: 采用网络药理学和分子对接技术探讨金钱草治疗炎症的作用靶点及活性机制。方法: 通过中药系统药理学数据库和分析平台筛选金钱草主要活性成分及靶点; 通过 Drugbank 数据库获取炎症疾病靶点; 采用韦恩 (Venny) 图分析获得药物与疾病的交集靶点; 构建“中药-成分-靶点”网络; 对交集靶点进行 PPI 分析, GO 及 KEGG 通路富集分析, 分子对接分析。结果: 共筛选出 10 个活性成分, 疾病靶点 602 个, 蛋白相互作用网络筛选出 58 个核心靶点, 主要为 $\beta 2$ 肾上腺素能受体 (ADRB2)、NF- κ B 复合物抑制蛋白 (NFKBIA)、干扰素基因 (IFNG)、重组人白介素-1 β 蛋白 (IL1B)、表皮生长因子 (EGF)。GO 富集分析得到 541 个生物过程, KEGG 分析得到 212 条信号通路, 主要涉及癌症通路、流体剪切应力与动脉粥样硬化、弓形虫病、肿瘤坏死因子信号通路、白介素-17 信号通路、乙型肝炎、冠状病毒疾病-新冠肺炎等。分子对接表明, 关键核心靶点与重要活性成分均有较好的结合性能。结论: 金钱草抗炎具有多成分、多靶点、多通路的特点, 可为后续研究金钱草治疗炎症提供依据。

关键词: 金钱草, 网络药理学, 分子对接, 炎症, 中药

中图分类号: R285 文献标识码: A 文章编号: 1003-6563(2025)04-0022-07

Anti-inflammatory mechanism of Lysimachiae Herba based on network pharmacology and molecular docking^{*}

OU Xiaohua, LUO Leyan, ZHANG Suzhong, CHEN Ruie, YAO Xiaoli, FU Yu, LUO Lan[▲]

(School of Pharmacy, Guangzhou Xinhua University, Guangzhou 510520, China)

Abstract: In this study we explored the potential mechanism of Lysimachiae Herba in the treatment of inflammation by network pharmacology and molecular docking. The main active ingredients and targets of Lysimachiae Herba were screened out by using the TCMSD database. The disease targets related to inflammation were retrieved through the GeneCards database. Venny plot was used to obtain the intersection targets of the drug and the disease. The medicine-ingredients-targets network was constructed. PPI analysis, GO and KEGG pathway enrichment analysis, and molecular docking analysis were performed on the intersecting targets. A total of 10 active ingredients and 602 disease targets were obtained. 58 core targets were screened out by PPI, including ADRB2, NFKBIA, IFNG, IL1B and EGF. 541 GO items and 212 signal pathways were obtained through GO and KEGG enrichment analysis, involving cancer pathways, fluid shear stress and atherosclerosis, toxoplasmosis, TNF signaling pathway, IL-17 signaling pathway, hepatitis B, and coronavirus disease (COVID-19). The molecular docking results showed that the active ingredients and targets had good binding performance. In conclusion, Lysimachiae Herba has the characteristics of multiple components, targets, and pathways in the treatment of inflammation, which can provide a basis for subsequent research on the treatment of inflammation with Lysimachiae Herba.

Keywords: Lysimachiae Herba, network pharmacology, molecular docking, inflammation, traditional Chinese medicine

金钱草,又名四川大金钱草、铜钱草,性味甘、咸、微寒,归肝、胆、肾、膀胱经,全草入药,被记载于清代赵学楷的《百草镜》中^[1],1977年正式被收录于《中华人民共和国药典》^[2],其治疗肝胆结石效果显著,为治结石之要药^[3]。金钱草具有利湿、利尿、退黄、通淋、解毒、消肿的功效,常用于治疗痈肿疔疮、肾脏结石、胸胁胀痛、热淋和蛇虫咬伤等病症,活性成分为黄酮类、苷类、鞣质、挥发油、氨基酸等,在我国主要分布在四川、云南、山西等省^[4-5]。现代药理研究发现金钱草具有排石、抑制结石形成、利胆、利尿、抗炎、抑菌、抗氧化等作用^[6-7]。

炎症是人体免疫系统对刺激的一种防御反应,一些疾病例如心血管疾病、肿瘤以及自身免疫性疾病等,这些疾病的发病均与炎症相关^[7]。近年来研究证明金钱草抗炎效果较好^[8],但金钱草成分复杂,涉及多种通路及靶点,其治疗炎症的作用机制尚未完全阐明。针对金钱草抗炎的作用机制,目前部分的细胞实验和动物实验未能全面系统阐明金钱草抗炎的具体作用机制。网络药理学能够对中药的成分和疾病靶点及两者关系进行大数据的谱库分析、关联分析,通过成分、靶点和富集通路的角度对中药的作用机制进行分析,为中药基础研究节省大量的动物实验筛选环节^[9-10]。本研究通过网络药理学及分子对接技术,对金钱草抗炎的主要化学成分及作用信号通路进行系统分析,为进一步开展相关的实验研究提供依据。

1 材料与方法

1.1 金钱草活性成分收集

中药系统药理数据库和分析平台(TCMSP) <https://old.tcm-sp-e.com/tcm-sp.php> 中检索“金钱草”,筛选指标 $OB \geq 30\%$, $DL \geq 0.18$,得到有效活性成分及相应靶点。

1.2 金钱草活性成分潜在靶点预测与筛选

利用蛋白质数据库(UniProt),限定物种为人类(Human),进行活性成分靶点基因名的转换,得到“金钱草”活性成分的相关靶点。

1.3 炎症相关靶点的获取

分别在人类基因综合数据库(Genecards)和在

线人类孟德尔遗传数据库(<https://omim.org/>),以“炎症(inflammation)”为关键词, GeneCards 数据库 中选取“相关性分数 >5 ”的靶点,获得炎症相关靶点。

1.4 金钱草与炎症共有靶点的映射

为明确“金钱草”与炎症潜在靶点间的相互作用,利用 Venny 2.1 软件,将“金钱草”与炎症的相关靶点映射处理,制作韦恩图,得到共有靶点。

1.5 “金钱草”-活性成分-靶点调控网络构建

将金钱草药物成分、炎症疾病靶点、共有靶点导入 Cytoscape 3.7.2 软件,通过软件中“Merge”功能进行网络合并,构建“金钱草”-活性成分-靶点网络模型图。通过软件中网络分析(NetworkAnalyzer)功能获得节点的度值,度值越高,节点越大,提示发挥主要功能的概率越大,选取度值大于 10 的成分作为“金钱草”抗炎的关键活性成分。

1.6 PPI 网络构建与核心靶点的筛选

使用蛋白互作数据库(Search Tool for the Retrieval of Interaction Gene/Proteins, STRING) (<https://nstring-db.org/>)进一步挖掘“金钱草”抗炎的靶点间相互作用关系,对关键靶点进行分析,物种选择“人种(Homo sapiens)”,置信度设置为 >0.9 ,下载蛋白相互作用(PPI)网络的 TSV 文件,导入 Cytoscape 3.7.2 软件,构建 PPI 网络。筛选出度值靠前的 10 个靶点作为“金钱草”抗炎的核心靶点。

1.7 通路富集分析

将“金钱草”与炎症的交集靶点导入 Metascape 平台(<https://metascape.org/gp/>)分别进行 GO 和 KEGG 富集分析,根据 P 值($P < 0.01$)筛选出排名较前的 GO 条目及 KEGG 信号通路。

1.8 “金钱草”抗炎关键活性成分与核心靶点对接

筛选出化合物-靶点数前 3 的“金钱草”关键活性成分,有机小分子生物活性数据(PubChem)获取 2D 结构 mol2 格式文件,通过 AutoDock 软件获得 PDBQT 格式文件。蛋白质结构数据库(PDB)中获取靶点蛋白 3D 结构.pdb 格式文件。通过 Pymol 软

件对结构去水,去有机官能团,利用 AutoDock 4.2.6 软件对关键成分及靶点进行加氢、加电荷,分子对接。

2 结果

2.1 “金钱草”活性成分与潜在靶点

通过 TCMSP 数据库得到金钱草活性成分 10 个,有效成分靶点 169 个,结果见表 1。通过 Geen-Cards 和 OMIM 数据库检索获得炎症靶点 602 个。“金钱草”与炎症疾病的交集靶点有 58 个,结果见图 1、表 2。

表 1 “金钱草”活性成分基本信息

Mol ID	化合物	OB/%	DL	来源药材
MOL001689	合金欢素	34.97	0.24	金钱草
MOL001790	蒙花苷	39.84	0.71	金钱草
MOL002341	橙皮素	70.31	0.27	金钱草
MOL000354	异鼠李素	49.6	0.31	金钱草
MOL000359	谷甾醇	36.91	0.75	金钱草
MOL000422	山柰酚	41.88	0.24	金钱草
MOL005869	胡萝卜苷	36.91	0.75	金钱草
MOL000073	(+)-表儿茶素	48.96	0.24	金钱草
MOL007936	沙苑子苷	32.52	0.64	金钱草
MOL000098	槲皮素	46.43	0.28	金钱草

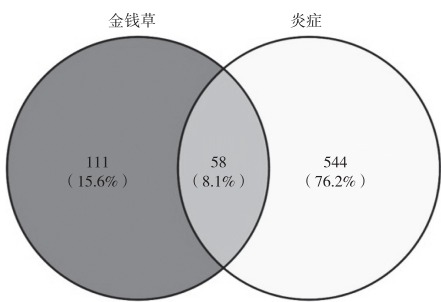


图 1 “金钱草”成分靶点与炎症相关靶点韦恩图

表 2 “金钱草”与炎症疾病的交集靶点

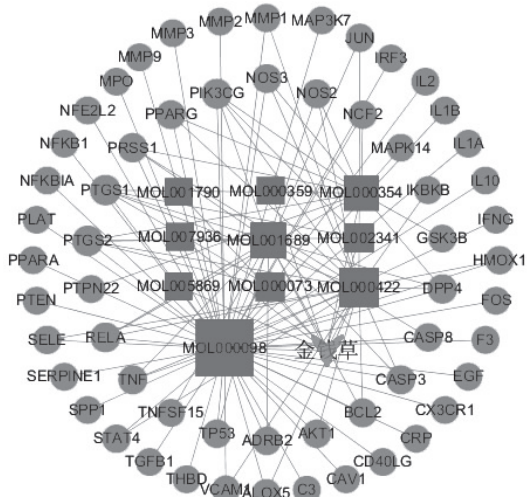
序号	靶点	序号	靶点	序号	靶点	序号	靶点	序号	靶点
1	TNFSF15	13	NOS2	25	STAT4	37	NFKB1A	49	PTEN
2	PTGS1	14	PPARG	26	HMOX1	38	C3	50	IL1A
3	PTGS2	15	PTPN22	27	SELE	39	CAV1	51	MPO
4	NFE2L2	16	CASP3	28	VCAM1	40	F3	52	DPP4
5	NFKB1	17	GSK3B	29	ALOX5	41	IL1B	53	PPARA
6	PIK3CG	18	NOS3	30	MMP3	42	ADRB2	54	CRP
7	CX3CR1	19	NCF2	31	EGF	43	TGFB1	55	PRSS1

续表 2

序号	靶点	序号	靶点	序号	靶点	序号	靶点
8	CD40LG	20	IKBKB	32	FOS	44	IL2
9	SERPINE1	21	AKT1	33	MMP2	45	PLAT
10	MAPK14	22	TNF	34	MMP9	46	THBD
11	TP53	23	JUN	35	MAP3K7	47	BCL2
12	CASP8	24	MMP1	36	IL10	48	IFNG

2.2 “金钱草”-成分-靶点网络构建与分析

构建“金钱草”-成分-靶点可视化网络模型图,见图 2。该网络的度值中位数为 1,度值大于 10 的化学成分有槲皮素 (MOL000098)、山柰酚 (MOL000422)、合金欢素 (MOL001689)、异鼠李素 (MOL000354),可能为金钱草抗炎的关键活性成分。



注:圆圈表示交集靶点;正方形表示金钱草活性成分;三角形表示中药金钱草。

图 2 “金钱草”-成分-靶点网络模型图

2.3 PPI 网络构建与核心靶点的筛选

通过 STRING 平台对 58 个交集靶点进行蛋白互作分析,如图 3 所示。选取靶点间作用强度靠前的 10 个靶点为抗炎核心靶点,分别为 $\beta 2$ 肾上腺素能受体 (ADRB2)、NF- κ B 复合物抑制蛋白 (NFKB1A)、干扰素基因 (IFNG)、重组人白介素-1 β 蛋白 (IL1B)、表皮生长因子 (EGF)、肿瘤蛋白 P53 (TP53)、过氧化物酶体增殖物激活受体 γ (PPARG)、人内皮型一氧化氮合酶 (NOS3)、基质金属蛋白酶 9 (MMP9)、白介素 10 (IL10)。

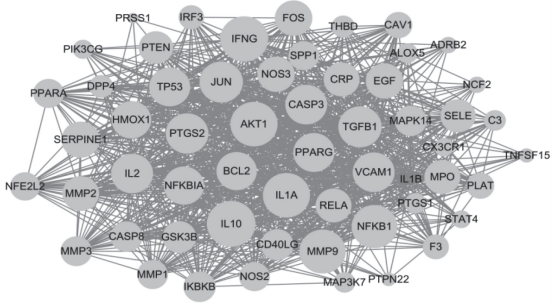


图3 “金钱草”与炎症共有靶点的 PPI 网络

2.4 生物功能与通路分析

2.4.1 GO 富集分析

GO 富集分析共得到 GO 条目 541 个,其中生物过程 440 个,细胞组成 41 个,分子功能 60 个。根据富集数量进行排序,见图 4。金钱草抗炎症的关键靶点主要涉及炎症反应、细胞外空间、相同蛋白质结合等 GO 条目。

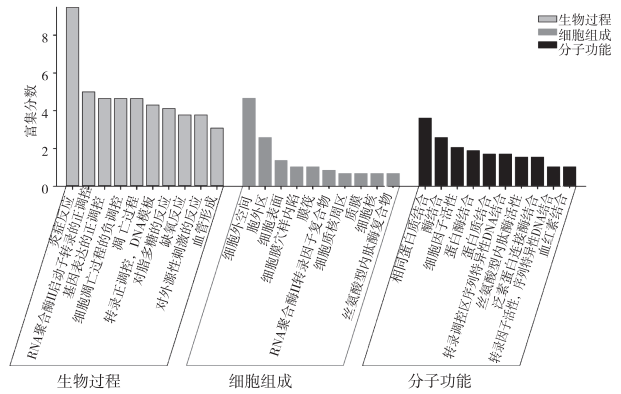


图4 金钱草抗炎关键靶点 GO 富集分析

2.4.2 KEGG 通路分析

KEGG 通路富集分析共筛选得到 212 条信号通路,见图 5。金钱草抗炎的关键靶点主要富集在流体剪切应力与动脉粥样硬化、弓形虫病、肿瘤坏死因子信号通路、白介素-17 信号通路、乙型肝炎、癌症通路及冠状病毒疾病-新冠肺炎等通路。

2.5 分子对接

将 3 个关键化合物槲皮素、山柰酚、合金欢素,与 5 个核心靶点 ADRB2、NFKB1A、IFNG、IL1B、EGF 进行分子对接,见表 3、图 6。结合能低(<-5.0 kJ/mol)说明靶点与成分化合物对接结合的构象较稳定,两者能够发生相互作用的机会较大。由表 3

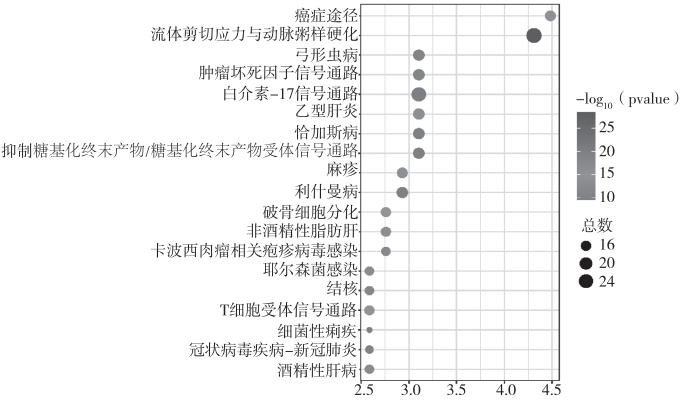


图5 金钱草抗炎关键靶点 KEGG 富集分析

可知,分子对接结果显示槲皮素、山柰酚和合金欢素与 ADRB2、NFKB1A、IFNG、IL1B、EGF 的结合能均远 <-5.0 kJ/mol,表明核心靶点与关键活性成分结合活性均较好,结合体构象较稳定。关键活性成分与核心靶点蛋白间主要通过氢键作用进行结合,主要氨基酸结合位为精氨酸(ARG)、缬氨酸(VAL)、赖氨酸(LYS)、谷氨酸(GLU)、亮氨酸(LEU)、丝氨酸(SER)、脯氨酸(PRO)、苏氨酸(THR)、天冬胺(ASN)、酪氨酸(TYR)、半胱氨酸(CYS)、甘氨酸(GLY)、异亮氨酸(ILE)、蛋氨酸(MET)、谷氨酰胺(GLN)等。

表 3 关键活性成分与核心靶点对接结果

成分	靶点	结合能 $/(\text{kJ} \cdot \text{mol}^{-1})$	结合氨基酸位点
槲皮素	ADRB2	-7.94	ARG、HS269
	NFKB1A	-9.22	LYS159、ARG169
	IFNG	-8.19	LYS55、VAL300
	IL1B	-8.36	SER43、LYS65、LEU62、GLU64、PRO87、TYR90、TYR68
	EGF	-7.50	ARG405、CYS287、GLY288、GLU293、SER291
山柰酚	ADRB2	-6.67	LYS267、ARG328、THR274、ASN69
	NFKB1A	-6.65	LYS267、THR274、ARG328、ASN69
	IFNG	-6.17	GLU180、CYS178、THR72、ILE152
合金欢素	IL1B	-6.25	GLU37、GLU64、LYS63、VAL41
	EGF	-5.86	CYS267、ARG231、LYS4、LEU1、GLU3

续表 3

成分	靶点	结合能 ($\text{kJ} \cdot \text{mol}^{-1}$)	结合氨基酸位点
合金欢素	ADRB2	-6.51	LYS267、CYS265、ARG1008、 LEU1013
	NFKBIA	-7.46	GLY62、SEP63、ASN50、 TRP66
	IFNG	-7.63	LYS55、GLN248、SER251、 LYS255、GLN48
	IL1B	-6.10	VAL41、MET20
	EGF	-5.92	LYS13、ASN40、TYR88、 GLU90

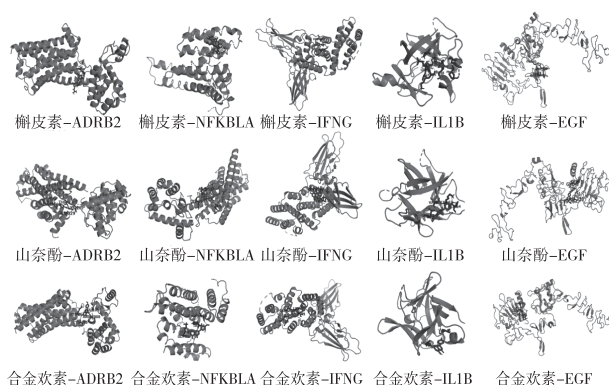


图 6 核心靶点与关键活性成分的结合模式图

3 讨论

金钱草是我国传统中草药之一,具有优良的药用价值和应用潜力。本研究采用网络药理学的方法,应用相关数据库和软件对金钱草抗炎的作用机制进行分析研究,筛选得到金钱草与炎症交集靶点基因 58 个,结合“单味中药-活性成分-作用靶点网络”获得檲皮素、山柰酚、合金欢素、异鼠李素等金钱草抗炎的关键有效成分。檲皮素具有抗氧化、抗炎、降血糖、保护心血管等多种生物学活性,可抑制炎症的反应、减缓细胞凋亡,保护肾脏^[11-12]。在肾脏结石及炎症模型中均可检测到高浓度的炎症标志物^[13]。山柰酚可通过 HO-1/p38 通路减轻糖尿病肾小管上皮细胞炎症因子的分泌,增加相关氧化还原酶的表达,从而减轻糖尿病导致的肾脏损伤,保护肾脏^[14]。合金欢素是一种黄酮类化合物,参与多种炎症相关疾病的治疗,如糖尿病、哮喘、缺血性脑卒中等,可抑制 AIM2 炎症小体活化,减少 Caspase-1、

IL-1 β 蛋白表达,减缓细胞的炎症反应^[15]。异鼠李素可清除氧自由基,下调免疫炎症反应^[7],并通过上调 Keap1/Nrf2 信号通路抑制 6-OHDA 诱导的细胞氧化损伤而改善神经元细胞毒性作用^[16]。

PPI 网络表明 ADRB2、NFKBIA、IFNG、IL1B、EGF、TP53、PPARG、NOS3、MMP9、IL10 等可能是金钱草抗炎作用的关键靶点。ADRB2 为 $\beta 2$ 肾上腺素受体基因,其表达产物广泛存在于气道上皮细胞中,与哮喘的发生有关^[17-18]。NFKBIA 能够编码表达 NF- κ B 复合物抑制蛋白 I κ B,该蛋白所在的 NF- κ B 信号通路跟炎症反应的调节密切相关^[19]。长链非编码 RNA (LncRNA) IFNG-AS1 与冠心病炎症细胞因子水平相关,沉默 LncRNA IFNG-AS1 基因表达,可促进细胞凋亡,抑制巨噬细胞的增殖、迁移,抑制 NF- κ B 信号通路的激活,降低炎症细胞因子的表达水平^[20]。IL-1 β 在炎症免疫损伤机制中起重要调节作用,是一种由 IL-1B 编码的单核因子,能够增强宿主对来自体内外刺激的应答能力,并具有较强的抑制胃酸分泌作用^[21]。上皮细胞的增殖和分化都与表皮生长因子 (EGF) 有重要的关系。EGF 对组织的修复、炎症部位组织新生有较好的促进作用,与非萎缩性胃炎疾病的发生和发展密切相关^[22-23]。

GO 和 KEGG 富集结果表明,金钱草发挥抗炎机制主要与炎症反应、细胞外空间、相同蛋白质结合等 GO 条目,与流体剪切应力与动脉粥样硬化、弓形虫病、肿瘤坏死因子信号通路、白介素-17 信号通路、乙型肝炎及冠状病毒疾病-新冠肺炎等 KEGG 通路有关。其中,流体剪切应力与动脉粥样硬化通路主要与动脉粥样硬化炎症疾病相关,流体剪切应力在调节动脉粥样硬化形成方面起关键作用,低流体剪切应力促进血管炎症和动脉粥样硬化,高流体剪切应力增加斑块易损性并促使斑块破裂出血等的发生^[24]。弓形虫感染在健康人群中常见,是一种全球多发性的人畜共患病,急性感染会导致神经损伤症状。有研究发现,芦丁等有抗炎、抗氧化特性成分,具有较好的抗弓形虫感染及减轻弓形虫性损伤的作用^[25]。白介素-17 (IL-17) 是介导炎症和自身免疫性疾病的一种关键促炎细胞因子,能够促进前列腺癌、结肠癌、膀胱癌等多种癌症的发生^[26]。肿瘤坏死因子是一种促炎因子,由巨噬细胞产生,与炎症的形成及肿瘤细胞的增殖有关^[27]。

本研究通过网络药理学及分子对接技术,探究金钱草抗炎的分子机制,构建了金钱草抗炎的活性

成分-疾病靶点作用网络及蛋白互作网络,对金钱草的关键成分、关键靶点以及炎症的机制进行探讨,分析发现金钱草通过槲皮素、山柰酚、合欢素、异鼠李素等成分,作用于 ADRB2、NFKBIA、IFNG、IL1B、EGF、TP53、PPARG、NOS3、MMP9、IL10 等关键靶点,通过多条通路,如:白介素-17 信号通路、流体剪切应力与动脉粥样硬化、肿瘤坏死因子信号通路等发挥抗炎效果,从而起抗炎的作用。本研究为深入探究金钱草抗炎活性的作用机制提供参考,为金钱草的临床应用提供理论基础。

参考文献【REFERENCES】

- [1] 赵学敏. 本草纲目拾遗[M]. 2 版. 北京:人民卫生出版社,1983:151.
- [2] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典:一部[S]. 北京:中国医药科技出版社,2020:229-230.
- [3] 陈云,郑韩英,徐璐娜,等. 金钱草本草考证及化学成分研究进展[J]. 亚太传统医药,2023,19(10):215-219.
- [4] 杨蒙恩,李彦冉,葛君玺,等. 金钱草的质量控制现状及质量标志物预测分析[J]. 中华中医药学刊,2024,42(10):112-117.
- [5] 周永逸,薛佳,陈海杰,等. 金钱草不同部位多元化学成分的分析与评价[J]. 分析测试学报,2023,42(8):930-942.
- [6] 陈曙辉,任毅轩,曹继刚. 基于网络药理学探析金钱草作为石淋要药治疗肾结石的作用机制研究[J]. 中国中西医结合肾病杂志,2021,22(4):340-344.
- [7] 李飞艳,赵月珍,刘群群,等. 利胆排石片与金钱草片中金钱草替以广金钱草或聚花过路黄后对大鼠尿液、胆汁排出量的影响研究[J]. 云南中医中药杂志,2020,41(4):79-84.
- [8] 苏静,王亚亚,梁轩,等. 金钱草的研究进展[J]. 华西药学杂志,2024,39(3):357-363.
- [9] 解静,高杉,李琳,等. 网络药理学在中药领域中的研究进展与应用策略[J]. 中草药,2019,50(10):2257-2265.
- [10] 赵友芳,段学清,朱晨,等. 基于网络药理学和分子对接探讨青黛防治 2 型糖尿病的作用机制研究[J]. 贵州科学,2024,42(1):11-17.
- [11] 叶苗,刘丽仙,梁晓美. 槲皮素对大鼠肾缺血再灌注损伤模型的保护作用[J]. 中国中西医结合肾病杂志,2019,20(12):1041-1043.
- [12] 陈桃香,吴海燕,黄申琴,等. 马桑叶药材质量标准的初步研究[J]. 贵州科学,2022,40(1):46-49.
- [13] DEVI K P, MALAR D S, NABAVI S F, et al. Kaempferol and inflammation: from chemistry to medicine[J]. Pharmacological research, 2015, 99:1-10.
- [14] 王超,魏翠婷,李润,等. 山柰酚通过改善肾小管上皮细胞的氧化应激与炎症反应减轻 1 型糖尿病小鼠肾损伤[J]. 解放军医学院学报,2024,45(3):261-269.
- [15] 叶勒丹·马汉,王兆霞,吴选霞,等. 刺槐素对小鼠骨髓巨噬细胞 AIM2 炎症小体活化的抑制作用[J]. 山东医药,2023,63(35):30-33.
- [16] 郑雨微,于浪潮,夏士杰,等. 异鼠李素对 6-羟基多巴胺诱导的神经元细胞毒性的影响及氧化损伤的保护作用[J]. 中国农业大学学报,2023,28(11):140-150.
- [17] 马卓然,林娜. 广西黑衣壮族 ADRB2 基因、IL-4R 基因多态性与儿童哮喘发病的关联研究[J]. 右江医学,2023,51(6):512-518.
- [18] 曲相珍,王艳军,杨香红. 儿童哮喘 IL-13、IL-4、ADRB2 及 FcER1B 基因多态性分析[J]. 当代临床医刊,2023,36(3):1-3.
- [19] 李丹,刘宝英,余明明,等. NFKBIA 基因多态性、饮食习惯及其交互作用与胃癌易感性的关系[J]. 癌变·畸变·突变,2020,32(3):198-202.
- [20] 姜海兵,姜述斌,杨毅,等. LncRNA IFNG-AS1 对巨噬细胞分化及炎症水平的影响[J]. 四川医学,2023,44(1):16-22.
- [21] 陈俊利,温莹,常虹,等. IL-1B 和 IL-1RN 基因多态性与非贲门胃癌发病风险的研究[J]. 现代预防医学,2016,43(2):342-345.
- [22] 张莉莉,王方方,王艳晖,等. 胃苏颗粒联合泮托拉唑对非萎缩性胃炎患者胃肠激素及血清 MCP-1、EGF 的影响[J]. 华北理工大学学报(医学版),2024,26(1):56-60.
- [23] SAADH M J, MIKHAILOVA M V, RASOOLZADEGAN S, et al. Therapeutic potential of mesenchymal stem/stromal cells (MSCs) - based cell therapy for inflammatory bowel diseases (IBD) therapy[J]. European journal of medical research, 2023, 28(1):47.
- [24] 黄宏,肖珉,李婕,等. 从“瘀热”理论探讨流体剪切应力与动脉粥样硬化的关系[J]. 中医临床研究,2023,15(32):30-34.
- [25] 韩成全,刘婧陶,于淼,等. 芦丁在 BV2 细胞中抗弓形虫的作用及机制分析[J]. 畜牧兽医学报,2024,55(7):3119-3131.
- [26] 陈雨甜,徐红,陈红玲,等. 白介素-17 及其相关信号通路支持幽门螺杆菌诱导胃癌发生的机制研究进展[J]. 肿瘤学杂志,2023,29(10):840-846.
- [27] 王郑林,常卫才,刘心语,等. 肿瘤坏死因子- α 通过 Wnt/ β -catenin 信号通路对胆囊癌细胞增殖的作用[J]. 实用临床医药杂志,2023,27(19):40-45.

HPLC 同时测定胆炎康胶囊中 3 种成分的含量*

龙丽娜, 吴 芸, 张 倩, 陈 维[▲]

(安顺市食品药品检验所, 贵州 安顺 561000)

摘 要: **目的:** 建立高效液相色谱法同时测定胆炎康胶囊中 3 种成分的含量。**方法:** 采用超声提取样品, 高效液相色谱法测定样品中黄芩苷、大黄素、大黄酚的含量; 色谱条件: 菲罗门 SuperLu C₁₈ (250 mm×4.6 mm, 5 μm) 色谱柱, 以甲醇-0.1% 甲酸溶液为流动相进行梯度洗脱, 流速 1.0 mL/min, 检测波长为 260 nm, 柱温 30 ℃。**结果:** 3 个成分在各自范围内线性关系良好 ($r^2 \geq 0.999$); 精密度 ($RSD \leq 0.8\%$)、重复性 ($RSD \leq 2.8\%$)、稳定性 ($RSD \leq 0.71\%$) 均良好; 平均加样回收率 ($n=6$) 为 98.28% ~ 105.13%, RSD 为 1.33% ~ 3.05%。**结论:** 该方法具有操作简便、快速, 重复性好, 结果准确可靠等特点, 可用于胆炎康胶囊的质量评价与质量控制, 可为全面控制和评价胆炎康胶囊的质量提供参考。

关键词: 胆炎康胶囊, 黄芩苷, 大黄素, 大黄酚, 高效液相色谱法

中图分类号: R 917 文献标识码: A 文章编号: 1003-6563 (2025) 04-0028-04

Simultaneous determination of three components in Danyankang capsules by HPLC*

LONG Lina, WU Yun, ZHANG Qian, CHEN Wei[▲]

(Anshun Food and Drug Inspection Institute, Anshun 561000, China)

Abstract: In this study we established an HPLC method for simultaneous determination of three components in Danyankang capsules. Ultrasonic extraction of the samples was adopted, and the contents of baicalin, emodin, and chrysophanol in the samples were determined by high-performance liquid chromatography. The chromatographic conditions: Phenomenex SuperLu C₁₈ column (250 mm×4.6 mm, 5 μm), methanol-0.1% formic acid solution as mobile phase for gradient elution, flow rate 1.0 mL/min, detection wavelength 260 nm, column temperature 30 ℃. The three components showed good linear relationship within their own ranges ($r^2 \geq 0.999$), and the precision ($RSD \leq 0.8\%$), repeatability ($RSD \leq 2.8\%$), and stability ($RSD \leq 0.71\%$) were all good. The average spiked recovery ($n=6$) was between 98.28% and 105.13%, with the RSD of 1.33% to 3.05%. The method has the characteristics of simple and fast operation, good repeatability, and accurate and reliable results, which can be used for the quality evaluation and control of Danyankang capsules. This study has provided reference for the comprehensive control and evaluation of the quality of Danyankang capsules.

Keywords: Danyankang capsules, baicalin, emodin, chrysophanol, HPLC

收稿日期: 2024-06-27; 修回日期: 2024-09-04

基金项目: 广州市科技计划项目 (202102080647); 校级大学生创新创业训练计划项目 (202313902104)。

作者简介: 欧晓华 (1995-), 女, 广东省罗定市人, 硕士, 助教, 专任教师, 研究方向为中药药效物质基础。

▲通讯作者: 罗 兰 (1984-), 女, 广东省梅州市人, 硕士, 副教授, 专任教师, 研究方向为中药现代化研究。

胆炎康胶囊作为苗药由贵州百灵企业集团制药股份有限公司生产,胆炎康胶囊的现行标准为国家药品标准:WS-10805(ZD-0805)-2002-2012Z,是由小花清风藤、凤尾草、连钱草、土大黄、穿心莲、虎耳草、黄芩、黄柏等8味药材经过相应的提取工艺制成的复方制剂^[1-2]。用于治疗胆囊手术后综合症,胆管炎,胆石症,以及肝胆湿热蕴结所致急、慢性胆囊炎,具有清热利湿、排石止痛的作用^[3]。

中药复方制剂组成复杂,其临床疗效往往是多个成分协同作用的结果。目前,有关胆炎康胶囊的研究报道较少,陈喜生^[4]等采用 HPLC 法测定胆炎康胶囊中黄芩苷的含量,陈琼霞^[5]等采用 HPLC 法测定胆炎康胶囊中土大黄苷的含量。黄芩、土大黄作为胆炎康胶囊中两味重要药材,具有保护肝损伤、抗菌消炎、止血等功效,此两味药材中黄芩苷、大黄素、大黄酚的含量较高^[6-7]。胆炎康胶囊现行质量标准中含量测定成分为大黄素,质控指标少,不能较好反映产品的质量,供试品溶液制备过程经过2次加热回流处理,过程繁琐耗时较长。因此,为了进一步提高标准操作的简便性和质量控制水平,本实验建立用超声方式提取胆炎康胶囊中的大黄素、黄芩苷和大黄酚的方法,并用高效液相色谱法测定其含量,该方法结果准确可靠,重复性好,便于操作,可为胆炎康胶囊的标准和产品的质量提升提供实验依据。

1 仪器与材料

1.1 仪器

高效液相色谱仪(Waters e2695;美国 Waters 公司;Agilent 1260;美国 Agilent 公司)、日本岛津 AY-120 电子天平(万分之一)、瑞士梅特勒-托利多 XSE105DU 电子天平(十万分之一)、恒温水浴锅(天津市泰斯特仪器有限公司)、超声波清洗机(深圳市方奥微电子有限公司)。

1.2 试药

黄芩苷对照品(批号:110715-202223,含量以 97.2%计)、大黄素对照品(批号:110756-201913,含量以 96.0%计)、大黄酚对照品(批号:110796-201621,含量以 99.2%计)均购于中国食品药品检

定研究院,甲醇为色谱纯(批号:23055023,安徽天地高纯溶剂有限公司),甲酸为色谱纯(批号:20191012,天津市科密欧化学试剂有限公司),甲醇为分析纯(批号:2023 年 04 月 15 日,天津市富宇精细化工有限公司),娃哈哈纯净水,胆炎康胶囊(贵州百灵企业集团制药股份有限公司)。

2 方法与结果

2.1 溶液的制备

2.1.1 对照品溶液

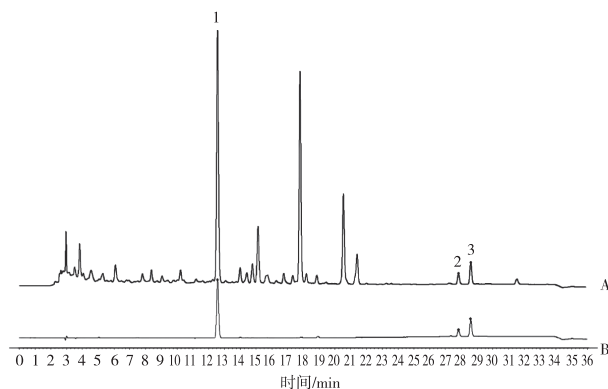
用电子天平(型号:XSE105DU)精密称定黄芩苷 19.36 mg、大黄素 22.55 mg、大黄酚 12.52 mg,分别置于 50 mL 量瓶中,加甲醇制成对照品储备液。

2.1.2 供试品溶液

将胆炎康胶囊内容物混匀,取本品约 0.2 g,精密称定,置 50 mL 量瓶中,加入约 45 mL 70% 甲醇,超声处理 30 min,放冷后加 70% 甲醇至刻度,摇匀,滤过,取续滤液,即得。

2.2 色谱条件

色谱柱:菲罗门 SuperLu C₁₈(250 mm×4.6 mm, 5 μm),Agilent TC-C₁₈(250 mm×4.6 mm, 5 μm);以甲醇(A)-0.1% 甲酸溶液(B)为流动相,梯度洗脱(0~10 min, 40% A→60%; 10~15 min, 60% A→70%; 15~25 min, 70% A→85%; 25~30 min, 85% A);检测波长:260 nm;柱温:30 ℃;流速:1.0 mL/min;进样量:10 μL。结果见图 1。



A-供试品, B-混合对照品。1-黄芩苷; 2-大黄素; 3-大黄酚。

图1 HPLC 色谱图

2.3 方法学考察

2.3.1 线性关系考察

精密吸取“2.1.1”项下对照品储备液适量,加甲醇配置成每 1 mL 分别含黄芩苷 7.53 μg 、18.82 μg 、37.64 μg 、75.27 μg 、94.09 μg 、188.18 μg ; 大黄素 0.43 μg 、1.08 μg 、2.16 μg 、4.33 μg 、10.82 μg 、21.65 μg ; 大黄酚 0.99 μg 、2.48 μg 、4.97 μg 、9.94 μg 、24.84 μg 、49.68 μg 的混合溶液,按照“2.2”项分析,以峰面积为纵坐标,浓度为横坐标绘制标准曲线,3 个成分在各自范围内线性关系良好,结果见表 1。

表 1 各成分线性关系

成分	回归方程	r^2	线性范围/($\mu\text{g}/\text{mL}$)
黄芩苷	$Y=18308X-866.06$	0.9996	7.53 ~ 188.18
大黄素	$Y=33287X+2605.4$	0.9999	0.43 ~ 21.65
大黄酚	$Y=34055X+22958$	0.9990	0.99 ~ 49.68

2.3.2 精密度试验

分别精密吸取“2.3.1”项下高、中、低 3 个浓度的混合对照溶液 10 μL ,连续进样 6 次,测得黄芩苷峰面积 RSD ($n=6$) 分别为 0.5%、0.1%、0.2%; 大黄素峰面积 RSD ($n=6$) 分别为 0.8%、0.1%、0.3%; 大黄酚峰面积 RSD ($n=6$) 分别为 0.4%、0.1%、0.4%,仪器精密度良好。

2.3.3 重复性试验

取同一批次胆炎康胶囊的内容物,混匀,每份约 0.2 g,精密称定 6 份,按“2.1.2”项下方法制备,照“2.2”项下色谱条件分析并计算黄芩苷、大黄素、大黄酚含量,样品中黄芩苷、大黄素、大黄酚的平均含量是 19.76 mg/g、0.48 mg/g、0.85 mg/g, RSD 分别为 1.8%、2.0%、2.8%,重复性良好。

2.3.4 稳定性试验

按“2.1.2”项下制备胆炎康胶囊供试品溶液(样品批号:A20221005),精密吸取 10 μL ,按“2.2”项色谱条件,于供试品溶液制备后 0 h、12 h、24 h、48 h 分别进行测定,黄芩苷、大黄素、大黄酚的峰面积 RSD 为 0.23%、0.13%、0.71%,结果表明供试品溶液在 48 h 内稳定。

2.3.5 加样回收率试验

称取已测知含量的胆炎康胶囊内容物 6 份,每

份约 0.1 g,精密称定,置 50 mL 量瓶中,分别加入黄芩苷对照品储备液 5.5 mL,大黄素对照品储备液 0.25 mL,大黄酚对照品储备液 0.55 mL,再加入 70% 甲醇约 40 mL,超声处理 30 min,放冷后加 70% 甲醇至刻度,摇匀,滤过,制得供试品溶液,按照“2.2”项进行测定并计算回收率,结果见表 2。

表 2 加样回收实验结果

成分	取样量 /g	原有量 / μg	加入量 / μg	测定量 / μg	回收率 /%	平均回收率 /%	RSD /%
黄芩苷	0.1097	2167.67	2129.60	4424.58	105.98	105.13	1.33
	0.1076	2126.18	2129.60	4401.90	106.86		
	0.1060	2094.56	2129.60	4349.60	105.89		
	0.1071	2116.30	2129.60	4339.44	104.39		
	0.1069	2112.34	2129.60	4342.36	104.72		
	0.1073	2120.25	2129.60	4312.54	102.94		
大黄素	0.1097	52.66	112.75	164.20	98.93	98.28	1.69
	0.1076	51.65	112.75	163.78	99.45		
	0.1060	50.88	112.75	163.76	100.12		
	0.1071	51.41	112.75	161.19	97.37		
	0.1069	51.31	112.75	162.19	98.34		
	0.1073	51.50	112.75	159.16	95.48		
大黄酚	0.1097	93.25	137.72	234.66	102.68	9.98	3.05
	0.1076	91.46	137.72	235.45	104.55		
	0.1060	90.10	137.72	225.78	98.52		
	0.1071	91.04	137.72	224.70	97.05		
	0.1069	90.87	137.72	224.73	97.20		
	0.1073	91.21	137.72	228.75	99.87		

2.3.6 耐用性试验

取同一供试品溶液按“2.2”项条件分析,使用菲罗门 SuperLu C_{18} (250 mm $\times$ 4.6 mm, 5 μm) 和 Agilent TC- C_{18} (250 mm $\times$ 4.6 mm, 5 μm) 色谱柱进行测定,相邻峰之间分离度分别为 23.2、7.0 和 23.4、3.2;使用 Agilent 1260 高效液相色谱仪和 Waters e2695 高效液相色谱仪进行测定,相邻峰之间分离度分别为 67.6、3.3 和 23.2、7.0,均符合《中国药典》2020 版的要求^[8]。

2.4 样品含量的测定

取 3 批胆炎康胶囊内容物适量,按“2.1.2”项

下的方法制备供试品溶液,照“2.2”项下色谱条件测定供试品中黄芩苷、大黄素、大黄酚的含量,参照《中国药典》外标法计算样品中3种成分的含量,结果见表3。

表3 样品含量测定结果

品名	批号	黄芩苷 /(mg/g)	大黄素 /(mg/g)	大黄酚 /(mg/g)
胆炎康胶囊	A20221005	19.76	0.48	0.85
胆炎康胶囊	20220402	31.43	0.40	0.75
胆炎康胶囊	20230802	39.38	0.54	1.02

3 讨论

3.1 检测波长的选择

采用DAD检测器在190~400 nm对黄芩苷、大黄素、大黄酚进行光谱扫描;结果表明,以上3个成分在260 nm处均响应良好,各色谱峰均分离度良好,无干扰,且基线平整,故本文选择260 nm作为检验波长同时测定胆炎康胶囊中大黄素、大黄酚、黄芩苷的含量。

3.2 供试品溶液制备条件的优化

本实验分别考察了超声和加热回流两种提取方法,结果显示两种提取方法的回收率均达到要求且差异较小。用超声提取胆炎康胶囊中的黄芩苷、大黄素、大黄酚的方法能使操作更加简便,可以缩短提取时间,从而达到提高提取效率的作用和节能环保的目的。比较了不同浓度的甲醇(30%、50%、70%、100%)、不同提取的溶剂体积(10 mL、20 mL、25 mL、50 mL)和不同超声时间(15 min、30 min、45 min、60 min),结果表明,在取样量为0.2 g时,加入70%甲醇50 mL超声30 min时,提取效果最好。

4 结论

本实验基于HPLC建立了同时测定胆炎康胶囊

中黄芩苷、大黄素、大黄酚3个药效成分含量的分析方法,该方法具有操作简便、快速,各色谱峰分离度效果较好,重复性好,结果准确可靠等特点,可用于胆炎康胶囊的质量评价与质量控制,可为全面控制和评价胆炎康胶囊的质量提供参考。

参考文献【REFERENCES】

- [1] 国家药品监督管理局. 国家中成药标准汇编:内科肝胆分册[S]. 2005:29-30.
- [2] 国家食品药品监督管理局. 胆炎康胶囊:WS-10805(ZD-0805)-2002-2012Z[S]. 2012.
- [3] 成培光,李晓云,刘青梅. 高效液相色谱法测定胆炎康胶囊中黄芩苷的含量[J]. 解放军药学学报,2010,26(5):442-443.
- [4] 陈喜生,胡滨湘. HPLC法测定胆炎康胶囊中黄芩苷的含量[J]. 中国药师,2009,12(10):1412-1413.
- [5] 陈琼霞,钱淑琴,陈宗良. 高效液相色谱法测定胆炎康胶囊中土大黄苷的含量[C]//2011年全国医药学术论坛交流会暨临床药学与药学服务研究进展培训班论文集. 2011:188-189.
- [6] 刘红森,李艳玲,杨继章. 土大黄的药理作用及临床应用研究进展[J]. 中国药房,2013,24(15):1422-1425.
- [7] 文敏,李雪,付守廷. 黄芩苷药理作用研究新进展[J]. 沈阳药科大学学报,2008(2):158-162.
- [8] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典:四部[S]. 北京:中国医药科技出版社. 2020:63.

收稿日期:2025-02-06;修回日期:2025-02-06

基金项目:安顺市科技创新平台建设计划项目(安市科平[2017]03号)。

作者简介:龙丽娜(1990-),女,工程师,本科,从事食品药品检验与质量标准研究工作。

▲通讯作者:陈维(1988-),男,高级工程师,本科,从事食品药品检验与质量标准研究工作。

一测多评法测定紫麻中 3 种成分的含量

潘国吉¹, 陈敬忠^{2▲}, 王 健¹, 贺 俊¹, 陈 园¹, 邓 祯¹, 刘 燕¹

(¹ 黔西南州中医院, 贵州 黔西南州 562400, ² 贵州中医药大学, 贵州 贵阳 550025)

摘 要: **目的:** 建立一测多评法(QAMS)同时测定紫麻药材中 3 个成分的含量, 验证该方法的准确性与可行性, 并对不同产地药材质量进行评价。**方法:** 采用 HPLC 法, 以没食子酸为内参物, 分别计算没食子酸甲酯、(+)-儿茶素的相对校正因子; 采用外标(ESM)法、标准曲线法(SCM)和 QAMS 法同时计算紫麻药材中 3 种成分的含量; 再将所测含量的平均值通过(<https://www.genescloud.cn/chart/GroupCirHeatmap>)进行聚类与热图分析评价。**结果:** 方法学考察表明所建立的 QAMS 法准确可靠, 各相对校正因子重复性良好, ESM、SCM 与 QAMS 测定结果之间无显著差异; 聚类分析与热图分析结果显示 S3 样品的品质相对较优。**结论:** 所建立的 QAMS 可用于紫麻药材的多指标质量控制与评价。

关键词: 紫麻, 一测多评法, 没食子酸, 没食子酸甲酯, (+)-儿茶素

中图分类号: R282.71 文献标识码: A 文章编号: 1003-6563(2025)04-0032-06

Simultaneous determination of three components in Zima by QAMS

PAN Guoji¹, CHEN Jingzhong^{2▲}, WANG Jian¹, HE Jun¹, CHEN Yuan¹, DENG Zhen¹, LIU Yan¹

(¹ Qianxinan Hospital of Traditional Chinese Medicine, Qianxinan 562400, China; ² Guizhou University of Traditional Chinese Medicine, Guiyang 550025, China)

Abstract: In this study we established the quantitative analysis of multi-components by single marker(QAMS) method for the determination of the contents of three components in Zima. The accuracy and feasibility of this method were verified, and the quality of Zima from different origins was evaluated. The HPLC method was adopted, gallic acid was chosen as the standard substance to calculate the relative correction factor of methyl gallate and (+)-catechin. The contents of the three components in Zima was calculated by external standard method(ESM), standard curve method(SCM) and QAMS. The average values of the measured contents were evaluated through cluster analysis and heatmap analysis at <https://www.genescloud.cn/chart/GroupCirHeatmap>. The methodological investigation indicates that the established QAMS method is accurate and reliable, and the repeatability of each relative correction factor is excellent; there is no significant difference between the results calculated by ESM, SCM and QAMS. Cluster analysis and heatmap analysis show that sample S3 has superior quality. The established QAMS method can be used for the multi-index quality control and evaluation of Zima.

Keywords: Zima, quantitative analysis of multi-components by single marker(QAMS), gallic acid, methyl gallate, (+)-catechin

紫麻来源于葡萄科 Vitaceae 蛇葡萄属 *Ampelopsis Michx.* 植物异叶蛇葡萄 *Ampelopsis humulifolia Bunge. var. heterophylla* (Thunb.) K. Koch. 和三裂蛇葡萄 *Ampelopsis delavayana* Planch. 的干燥根, 主要

分布于贵州、湖南、湖北、广西壮族自治区等地^[1-2]。收载于 2019 版《贵州省中药材民族药材质量标准》(第二卷), 为贵州省少数民族习用药材, 具有清热补虚、散瘀通络、解毒等功效, 常用于治疗产后心烦

口渴、中风半身不遂、跌扑损伤等症^[3-4]。现代药理学研究表明,蛇葡萄属植物中的酚类成分在抗感染、抗病毒、抗细菌、抗肿瘤、保肝和增强免疫力等方面具有很好的开发利用价值^[5-9],其所含化学成分没食子酸与没食子酸甲酯具有抗氧化、抗菌、抗肿瘤及保护心血管系统等多种活性,(+)-儿茶素具有抗肿瘤、抗氧化、抗细菌以及保护心脑血管器官等多种作用^[10-12]。由此可见,没食子酸、没食子酸甲酯与(+)-儿茶素作为紫麻药材的关键药效组分在临床药理中起主导作用,但目前尚未报道紫麻药材较完整的质量控制标准,缺乏对其进行过程质量控制和药效组分关系的系统研究。

一测多评法是利用各有效成分之间存在的函数及比例关系选择某一组分作为内参物(价廉,易得),并建立与其他组分之间的相对校正因子 f_w ,通过 f_w 计算出其他组分的含量,实现只测定一个组分而对多个组分进行同步监测的目的,可以很好地解决上述问题,该研究思路已在众多药材或复方制剂中的多成分含量测定中得到验证和广泛应用^[13-17],具有节省对照品、简便快速等优点。鉴于此,本文拟采用 HPLC 法,以没食子酸为内参物,建立一测多评法以测定紫麻中没食子酸、没食子酸甲酯、(+)-儿茶素的含量,并采用外标法与标准曲线法同步计算,验证一测多评法的可行性及准确性,实现其多指标成分的同步检测提供可靠的相对校正因子,为提高该药材的质量控制水平及其相关产业的开发研究奠定理论基础。

1 仪器与试药

1.1 仪器

Thermo UltiMate-3000 型高效液相色谱仪;Agilent 1100 型高效液相色谱仪;Shimadzu LC-2030 型高效液相色谱仪;Agilent 1260 型高效液相色谱仪;AG135 型电子天平(瑞士 Mettler-Toledo 公司);KQ-500DE 型数控超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司);DK-98II 电热恒温水浴锅(天津市泰斯特仪器有限公司)。色谱柱 Diamonsil-C₁₈(250 mm×4.6 mm,5 μm),Thermo Hytimate-C₁₈(250 mm×4.6 mm,5 μm),Phenomenex synergic-C₁₈(250 mm×4.6 mm,5 μm)等。

1.2 试药

没食子酸(批号:110831-200302),(+)-儿茶素(批号:110877-201604),均购于中国食品药品检定研究院;没食子酸甲酯(批号:1496-20161021),购于贵州迪大生物科技有限责任公司;甲醇(色谱纯,分析纯);乙腈(色谱纯);乙醇,磷酸为分析纯;实验用水为重蒸馏水。实验样品分别采于贵州省贵阳市、安顺市、惠水县等地,经贵州中医药大学孙庆文教授准确鉴定为葡萄科 Vitaceae 蛇葡萄属 *Ampelopsis Michx.* 植物异叶蛇葡萄 *A. humulifolia Bunge.* var. *heterophylla* (Thunb.) K. Koch. 和三裂蛇葡萄 *A. delavayana* Planch. 的干燥根,经 50 ℃ 干燥后,粉碎过六号筛,备用,详细信息见表 1。

表 1 样品信息

编号	样品来源	产地
S1	<i>A. Humulifolia.</i> var. <i>heterophylla</i>	贵州贵阳 (Guiyang, Guizhou)
S2	<i>A. Humulifolia.</i> var. <i>heterophylla</i>	贵州贵阳 (Guiyang, Guizhou)
S3	<i>A. Humulifolia.</i> var. <i>heterophylla</i>	贵州惠水 (Huishui, Guizhou)
S4	<i>A. Humulifolia.</i> var. <i>heterophylla</i>	贵州安顺 (Anshun, Guizhou)
S5	<i>A. Humulifolia.</i> var. <i>heterophylla</i>	贵州平坝 (Pingba, Guizhou)
S6	<i>A. delavayana</i>	贵州都匀 (Duyun, Guizhou)
S7	<i>A. delavayana</i>	贵州都匀 (Duyun, Guizhou)
S8	<i>A. delavayana</i>	贵州都匀 (Duyun, Guizhou)
S9	<i>A. delavayana</i>	贵州石阡 (Shiqian, Guizhou)
S10	<i>A. delavayana</i>	贵州惠水 (Huishui, Guizhou)
S11	<i>A. delavayana</i>	贵州贵阳 (Guiyang, Guizhou)

2 方法与结果

2.1 供试品溶液的制备

取药材粉末约 1.0 g,精密称定,置于锥形瓶中,加入 20 mL 的 60% 甲醇溶液,水浴回流提取 2 h,趁热过滤,续滤液水浴挥干,残渣加 60% 甲醇溶解于 5 mL 的量瓶中,并定容至刻度,摇匀,过 0.45 μm 微孔滤膜,即得。

2.2 混合对照品溶液的制备

分别取没食子酸、没食子酸甲酯与(+)-儿茶素适量,精密称定,加 60% 甲醇溶解并分别制成系列质量浓度的单一对照品储备液。分别精密吸取不同体积的单一对照品储备液制成浓度分别为 0.04 mg·mL⁻¹、0.02 mg·mL⁻¹、0.83 mg·mL⁻¹ 的混合

对照品溶液,备用。

2.3 色谱条件

色谱柱为 Diamonsil-C₁₈ (250 mm×4.6 mm, 5 μm);检测波长为 271 nm;柱温为 25 ℃;进样量为 10 μL;流速为 1 mL·min⁻¹;流动相为 0.1% 磷酸溶液(A)-乙腈(B),梯度洗脱(0~22 min,5% B;22~25 min,5%~8% B;25~40 min,8% B;40~50 min,8%~8.5% B),记录 50 min,供试品与对照品分离情况良好。

2.4 方法学考察

2.4.1 系统适用性及专属性试验

精密吸取“2.1”项下的供试品溶液、“2.2”项下混合对照品溶液及 60% 甲醇溶液,于“2.3”项下色谱条件进样分析,结果显示,空白溶液未见色谱峰,说明空白溶液无干扰;供试品溶液色谱图中 1、2、3 号峰的保留时间与混合对照品溶液中所呈现的保留时间相一致,其纯度因子依次为 1000、997、1000,峰纯度良好,分离度均大于 1.5,且 UV 吸收光谱曲线图相同,理论板数以没食子酸色谱峰计大于 3000,表明该方法的专属性良好,见图 1。

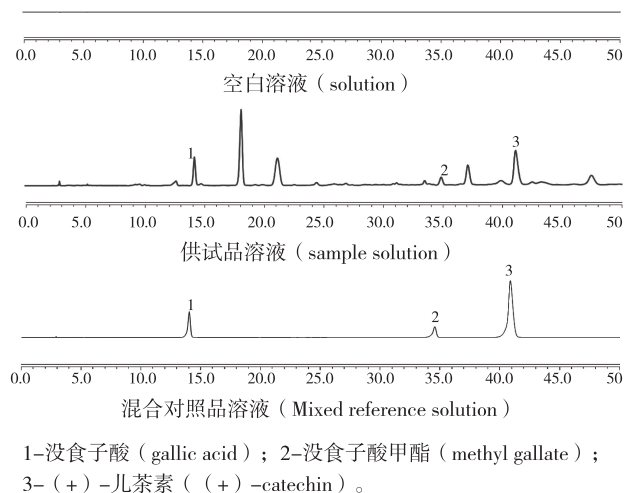


图 1 HPLC 色谱图

2.4.2 线性关系的考察

分别取上述没食子酸、(+)-儿茶素对照品溶液各 1 mL、2 mL、4 mL、6 mL、8 mL、10 mL 置 10 mL 容量瓶中,取没食子酸甲酯 1 mL、5 mL、10 mL、15 mL、20 mL、25 mL 置 25 mL 容量瓶中,以 60% 甲醇溶液定容至刻度,在“2.3”项下色谱条件进样分析,以对

照品进样量(X)为横坐标,峰面积值(Y)为纵坐标绘制标准曲线,并计算回归方程,结果见表 2。

表 2 紫麻药材中 3 种成分的回归方程

成 分	回归方程	线性范围/μg	r
没食子酸(gallic acid)	$Y=30.172X+0.0922$	10.00~100.0	0.9999
没食子酸甲酯(methyl gallate)	$Y=35.862X+0.2256$	8.000~200.0	0.9999
(+)-儿茶素((+)-catechin)	$Y=6.2559X+0.8829$	200.0~2000	0.9999

2.4.3 精密度试验

取“2.2”项下混合对照品溶液,按“2.3”项下色谱条件连续进样 6 次,记录没食子酸、没食子酸甲酯与(+)-儿茶素的峰面积,计算其 RSD 值,依次为 0.24%、0.25%、0.11%,均小于 2.0%,表明仪器精密度良好。

2.4.4 稳定性试验

取 S1 号样品粉末约 1.0 g,精密称定,按“2.1”项下方法制备供试品溶液,按“2.3”项下色谱条件在室温分别放置 0 h、2 h、4 h、6 h、8 h、12 h、24 h、48 h 进样分析,记录没食子酸、没食子酸甲酯与(+)-儿茶素的峰面积,计算 RSD 值,分别为 0.30%、0.51%、0.15%,均小于 2.0%,结果表明供试品溶液在 48 h 内稳定。

2.4.5 重复性试验

精密称取 S1 号样品粉末 6 份,每份约 1.0 g,精密称定,按“2.1”项下方法平行制备供试品溶液,按“2.3”项下色谱条件进样分析,测定没食子酸、没食子酸甲酯与(+)-儿茶素的平均质量分数,分别为 0.292 mg·g⁻¹、0.093 mg·g⁻¹、3.462 mg·g⁻¹,RSD 值分别为 1.6%、1.1%、1.9%,均小于 2.0%,表明该方法的重复性良好。

2.4.6 加样回收率试验

精密称取已知含量的 S1 号样品 9 份,每份约 0.5 g,置于锥形瓶中,分别按 1:0.5、1:1、1:1.5 比例加入对照品,按照“2.1”项下方法制备供试品溶液,按“2.3”项下色谱条件进样分析。结果表明,没食子酸、没食子酸甲酯与(+)-儿茶素的平均回收率分别为 98.31%、98.17%、97.68%,其 RSD 值分别为 1.2%、1.8%、1.2%,均小于 2.0%,表明该方法的准确度高。

2.5 相对校正因子的测定

分别精密吸取“2.4.2”项下的系列混合对照品

溶液,按“2.3”项下色谱条件进样分析,以没食子酸为内参物,按公式 $f_{si}=f_s/f=(A_s\times C_i)/(A_i\times C_s)$ (A_s 、 C_s 分别为内参物对照品的峰面积和浓度, A_i 、 C_i 分别为待测成分的对照品的峰面积和浓度) 计算没食子酸对没食子酸甲酯、(+)-儿茶素的相对校正因子 $f_{A/B}$ 、 $f_{A/C}$,结果见表3。

表3 3个成分的 f

进样体积/ μL	$f_{A/B}$	$f_{A/C}$
1	0.826	4.703
2.5	0.828	4.748
5	0.822	4.771
10	0.820	4.770
15	0.828	4.772
20	0.830	4.757
25	0.818	4.782
平均值	0.825	4.863
RSD/%	0.55	0.56

2.6 相对校正因子重现性考察

2.6.1 不同体积流量对 f 值的影响

吸取“2.2”项下混合对照品溶液,用 Thermo UltiMate-3000 型高效液相色谱仪,按“2.3”项色谱条件分别进样 0.9 mL/min、1.00 mL/min 和 1.1 mL/min的体积流量,记录没食子酸、没食子酸甲酯与(+)-儿茶素的峰面积,计算 $f_{A/B}$ 与 $f_{A/C}$ 的平均值,分别为 0.816 与 0.475, RSD 分别为 0.82%、0.93%。结果表明不同体积流量对各成分的 f 值无显著性影响。

2.6.2 不同柱温对 f 值的影响

吸取“2.2”项下混合对照品溶液,用 Thermo UltiMate-3000 型高效液相色谱仪,按“2.3”项下色谱条件分别于 20℃、25℃和 30℃进样分析,记录没食子酸、没食子酸甲酯与(+)-儿茶素的峰面积,计算 $f_{A/B}$ 与 $f_{A/C}$ 的平均值,分别为 0.836 与 4.788, RSD 分别为 0.76%、1.1%。结果表明柱温对各成分的 f 值无显著性影响。

2.6.3 不同仪器与色谱柱对 f 值的影响

吸取“2.2”项下混合对照品溶液,分别于四台不同型号的高效液相色谱仪及三种不同型号的 C_{18} 色谱柱按“2.3”项下色谱条件进样分析,记录没食子酸、没食子酸甲酯与(+)-儿茶素的峰面积,计算

不同仪器不同色谱柱的 $f_{A/B}$ 与 $f_{A/C}$ 的平均值,分别为 0.804 与 4.923, RSD 分别为 1.4%、2.4%; 计算同一仪器不同色谱柱 $f_{A/B}$ 与 $f_{A/C}$ 的平均值,分别在 0.790~0.818 与 4.777~5.084, RSD 分别为 0.41%~0.93% 与 0.44%~0.63%,均小于 3%。结果表明仪器与色谱柱对各成分的 f 值无显著性影响,结果见表4。

表4 相对校正因子及相对保留时间考察结果($n=3$)

仪器	色谱柱	相对校正因子		相对保留时间	
		$f_{A/B}$	$f_{A/C}$	t_{RA}	t_{RB}
ThermoUnit 3000	Diamonsil Spursil- C_{18}	0.823	4.778	2.462	2.911
	Thermo Hytimate- C_{18}	0.821	4.798	2.435	2.768
	Phenomenex synergi	0.809	4.756	2.384	2.806
	平均值(mean)	0.818	4.777	2.427	2.828
	RSD/%	0.93	0.44	1.6	2.6
Agilent 1100	Diamonsil Spursil- C_{18}	0.804	5.106	2.476	2.976
	Thermo Hytimate- C_{18}	0.807	5.091	2.448	2.816
	Phenomenex synergi	0.793	5.056	2.402	2.870
	平均值(mean)	0.801	5.084	2.442	2.887
	RSD/%	0.92	0.50	1.5	2.8
SHIMADZU LC-2030	Diamonsil Spursil- C_{18}	0.813	4.980	2.455	2.847
	Thermo Hytimate- C_{18}	0.802	4.921	2.442	2.827
	Phenomenex synergi	0.803	4.934	2.428	2.831
	平均值(mean)	0.806	4.945	2.442	2.835
	RSD/%	0.75	0.63	0.55	0.37
Agilent 1260	Diamonsil Spursil- C_{18}	0.788	4.892	2.455	3.044
	Thermo Hytimate- C_{18}	0.794	4.904	2.444	2.850
	Phenomenex synergi	0.789	4.860	2.356	2.903
	平均值(mean)	0.790	4.885	2.418	2.932
	RSD/%	0.41	0.47	2.2	3.4
	平均值	0.804	4.923	2.432	2.871
	RSD/%	1.4	2.4	1.4	2.7

2.7 待测组分数谱峰的定位参数考察

采用相对保留时间定位法对待测组分数谱峰进行定位,吸取“2.2”项下混合对照品溶液,分别于四台不同型号的高效液相色谱仪及三种不同型号的 C_{18} 色谱柱按“2.3”项下色谱条件进样分析,记录没食子酸、没食子酸甲酯与(+)-儿茶素的保留时间,根据相对保留时间 $t_{I/S}=t_{R(I)}/t_{R(S)}$ (I 为待测成分, S 为内参物),计算没食子酸甲酯与(+)-儿茶素相对保留时间的 RSD 值,分别为 1.4% 与 2.7%,均小于 3%。结果表明,不同仪器和色谱柱测定的各成分的

相对保留时间波动较小,可用于待测成分的色谱峰定位,结果见表 4。

3 样品含量测定与结果分析

3.1 样品含量测定

取紫麻药材粉末约 1.0 g,精密称定,按“2.1”项下方法制备供试品溶液,照“2.3”项下色谱条件进样分析,记录没食子酸、没食子酸甲酯与(+)-儿茶素色谱峰峰面积值,以没食子酸为内标物,分别采用外标法、回归方程法和一测多评法计算样品中 3 个成分的含量,结果见表 5。采用 SPSS 16.0 软件对其进行分析比较,*t* 检验结果均为 *P*>0.05,表明 3 种方法的计算结果无显著性差异,说明所建立的 QAMS 法在紫麻药材多指标成分质量控制中有较好的准确性和可行性。

表 5 样品测定结果 (*n*=3)

序号	没食子酸			没食子酸甲酯			(+)-儿茶素		
	/mg · g ⁻¹			/mg · g ⁻¹			/mg · g ⁻¹		
	ESM	SCM	RSD /%	ESM	SCM	QAMS	ESM	SCM	QAMS
S1	0.315	0.319	1.1	0.103	0.101	0.103	3.689	3.791	3.793
S2	0.218	0.221	1.1	0.057	0.058	0.057	2.961	3.004	3.002
S3	0.279	0.286	1.8	0.485	0.491	0.490	7.260	7.364	7.354
S4	0.273	0.278	1.3	0.144	0.143	0.141	3.681	3.623	3.624
S5	0.125	0.128	1.5	0.081	0.083	0.083	5.250	5.363	5.362
S6	0.447	0.449	0.32	1.047	1.057	1.056	2.556	2.562	2.560
S7	0.430	0.432	0.30	0.269	0.277	0.273	1.033	1.043	1.041
S8	0.863	0.877	1.1	0.625	0.645	0.635	1.823	1.866	1.862
S9	0.461	0.467	0.87	0.885	0.913	0.913	1.515	1.504	1.514
S10	0.448	0.456	1.3	0.466	0.470	0.468	1.531	1.580	1.570
S11	0.234	0.237	0.94	0.020	0.020	0.020	1.391	1.418	1.428

3.2 结果分析

取没食子酸两种算法的平均含量,没食子酸甲酯与(+)-儿茶素 3 种算法的平均值,通过(<https://www.genesccloud.cn/chart/GroupCirHeatmap>)进行分析,结果见图 2。聚类分析将 11 批样品分为两大类,S6~S10 聚为一类,共有两个分支,S8 归为一类,S6、S7、S9、S10 归为一类,且均为三裂蛇葡萄;S1~S5、S11 聚为另外一类,也共有两个分支,S3 归为一类,S1、S2、S4、S5、S11 归为一类,除 S11 是三裂蛇葡萄,S1~S5 均为异叶蛇葡萄,可见两个物种所含化

学成分类型基本一致,但由于各产地的地势地貌、海拔气候、土壤成分、降雨等多项环境因素的影响,导致其化学成分含量存在一定的差异。图 2 中颜色的深浅变化表示 3 种成分的含量差异,其中(+)-儿茶素含量显著高于其他成分含量。结合含量测定结果分析可得,S8 样品中没食子酸的含量最高(0.870 mg · g⁻¹),为最低含量 S5 样品(0.127 mg · g⁻¹)的 6.8 倍;S6 样品中没食子酸甲酯的含量最高(1.053 mg · g⁻¹),为最低含量 S11 样品(0.02 mg · g⁻¹)的 52 倍;S3 样品中(+)-儿茶素的含量最高(7.326 mg · g⁻¹),为最低含量 S7 样品(1.039 mg · g⁻¹)的 6.8 倍;11 批样品中 3 个成分的总含量由高到低依次为 S3>S5>S1>S4>S6>S8>S2>S9>S10>S7>S11,其中 S3 样品中 3 个成分的总含量最高(8.097 mg · g⁻¹),为最低总含量 S11(1.668 mg · g⁻¹)的 4.8 倍。综上 11 批紫麻样品中最优品质为 S3 样品(贵州省惠水县)。

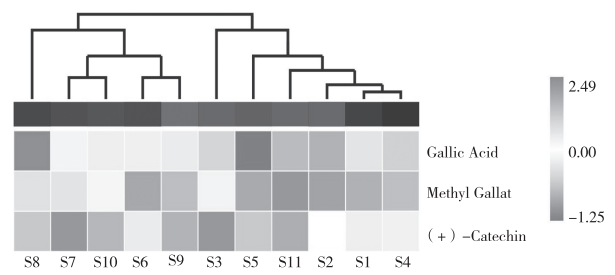


图 2 11 批紫麻样品成分差异热图

4 讨论

(1) 本实验分别比较乙腈-水、乙腈-0.1% 磷酸水溶液、甲醇-0.1% 磷酸水溶液、甲醇-乙腈-0.1% 磷酸水溶液等不同溶剂系统,结果表明,采用乙腈-0.1% 磷酸水系统进行梯度洗脱时峰形对称,分离度较好,基线平稳;利用 DAD 检测器对检测波长进行了考察,结果显示没食子酸的最大吸收波长为 214.92 nm 与 271.07 nm,没食子酸甲酯的最大吸收波长为 215.43 nm 与 271.71 nm,(+)-儿茶素的最大吸收波长为 202.74 nm 与 278.85 nm,由于药材中没食子酸与没食子酸甲酯的含量相对较低,且本文旨在比较各产地药材成分含量的高低,故选择 271 nm 为检测波长;分别对色谱柱 Dimonsil-C₁₈(钻石)、Thermo-Hytime-C₁₈、Phenomenex synergy、Dimonsil Spursil-C₁₈进行了考察,结果以 Dimonsil-C₁₈

分离效果最好;分别设定 20℃、25℃、30℃ 的检测柱温,结果表明,柱温为 25℃ 时,各成分的色谱峰保留时间适中,峰形、分离效果均较好。综上确定“2.3”项下的色谱条件。

(2)本实验从不同仪器、不同色谱柱测定得到紫麻中各成分相对校正因子、相对保留时间的 *RSD* 值均小于 5%,符合 QAMS 法方法学研究的耐用性考察要求,所测定的各成分相对校正因子重现性好,相对保留时间定位准确。采用 ESM 法、SCM 法与 QAMS 法比较 11 批紫麻药材中各成分的含量,结果显示,没食子酸、没食子酸甲酯与 (+)-儿茶素的 *t* 检验 *P* 值均 >0.05,3 种方法测定所得的量没有显著性的差异,表明建立的相对校正因子具有良好的可信度,进一步验证了 QAMS 法可作为紫麻药材多指标成分质控方法,各成分峰位以其相对保留时间定位,应在规定值的 3% ~ -3% 内,没食子酸甲酯、(+)-儿茶素的相对保留时间/相对校正因子规定值分别为 2.432/0.825、2.871/4.863。

(3)紫麻药材主要含酚类、黄酮类、萜类、甾体类和鞣质类等化学成分^[18-19]。这些成分在不同品种间的含量存在差异,且可能会影响其药理作用。然而药效的差异并不仅仅取决于单一成分的含量,还与多种成分之间的相互作用以及它们在人体内的代谢途径密切相关。因此,本研究结果为深入理解不同品种紫麻成分含量差异对药效的具体影响提供了理论基础。

参考文献【REFERENCES】

- [1] 中国科学院植物研究所. 中国高等植物图鉴:第二册[M]. 北京:科学出版社,1983:778.
- [2] 中国科学院中国植物志编辑委员会. 中国植物志:第 48 卷:第二分册[M]. 北京:科学出版社,1996:36-37.
- [3] 罗迎春,孙庆文. 贵州民族常用天然药物:第二卷[M]. 贵阳:贵州科技出版社,2013:66.
- [4] 贵州省药品监督管理局. 贵州省中药材民族药材质量标准:第二卷[S]. 北京:中国医药科技出版社,2019:144-145.
- [5] 沈伟,陈树和,张秀桥,等. 蛇葡萄属药用植物研究概况[J]. 湖北中医杂志,2006,28(9):55.

- [6] 胡婕,李辉敏. 蛇葡萄属植物药理作用研究进展[J]. 九江医学,2009,24(2):86-90.
- [7] 陈燕,梁敬钰. 蛇葡萄属药用植物的研究进展[J]. 海峡药学,2009,21(3):5-7.
- [8] 陈科力,叶丛进,PLUMB G W,等. 异叶蛇葡萄和蛇葡萄提取物抑制黄嘌呤氧化酶和脂质氧化酶的活性研究[J]. 中药材,2004(9):650-653.
- [9] 高瞻,林原,荆常锋. 蛇葡萄素药理活性研究进展[J]. 现代实用医学,2020,32(1):132-134.
- [10] 郑雪花,杨君,杨跃辉. 没食子酸药理作用的研究进展[J]. 中国医院药学杂志,2017,37(1):94-98.
- [11] 刘路洁,夏林波,张冉,等. 中药五倍子中没食子酸甲酯的含量测定研究[J]. 广州化工,2021,49(10):85-86.
- [12] 陆昌琪,毛世红,童华荣,等. 儿茶素及其衍生物合成研究进展[J]. 食品科学,2018,39(11):316-326.
- [13] 王智民,高慧敏,付雪涛,等. “一测多评”法中药质量标准评价模式方法学研究[J]. 中国中药杂志,2006,31(23):1925-1928.
- [14] 徐文芬,杨雯,何顺志,等. 一测多评法测定淫羊藿中淫羊藿苷和朝藿定 A、B、C[J]. 中草药,2016,47(1):130-137.
- [15] 孙庆文,潘国吉,徐文芬,等. 一测多评法测定小花清风藤中 5 种黄酮类成分的量[J]. 中药材,2019,42(12):2861-2867.
- [16] 占慧慧,黄丹,邓丹,等. 基于一测多评策略的茯苓不同部位三萜酸分析研究[J]. 药物分析杂志,2023,43(6):1061-1074.
- [17] 何兵,梁思成,田吉,等. 不同校正和定位方法在常春藤一测多评中的应用[J]. 药物分析杂志,2023,43(7):1135-1147.
- [18] 张琼光,谭文界,陈科力,等. 异叶蛇葡萄根化学成分研究[J]. 中药材,2003,26(9):616-617.
- [19] 曾铁鑫,许利嘉,宋颜君,等. 蛇葡萄属药用植物亲缘学研究[J]. 中国现代中药,2024,26(6):978-988.

收稿日期:2024-10-14;修回日期:2024-11-03

作者简介:潘国吉(1994-),男,硕士研究生,主管中药师,研究方向:中药民族药质量控制及新药研发。

▲通讯作者:陈敬忠(1994-),男,博士研究生,讲师,研究方向:中药资源生态学。

418 批化妆品微生物污染状况分析及控制菌方法适用性研究

薛咏兰,滕 钰,周映佑[△]

(贵州省食品药品检验所,贵州 贵阳 550018)

摘要: 目的:考察贵州省流通化妆品微生物污染状况,对控制菌的检出情况进行研究,为化妆品的监督管理提供科学依据。方法:按照《化妆品安全技术规范》(2015 年版),对 2023 年贵州省承担的国家化妆品监督抽检涉及微生物检验样品进行检验,通过 MALDI-TOF-MS 对污染菌进行鉴定,参照《中国药典》对控制菌的检出情况开展探索性研究。结果:418 批样品中,不合格样品 17 批,均为需氧菌总数、霉菌和酵母菌结果超限,不合格样品为面膜类产品;从 31 批样品中,分离纯化出 63 份污染菌样本,共鉴定出 26 株菌,包括检出频次较高的芽孢杆菌属和条件致病菌洋葱伯克霍尔德菌;控制菌耐热大肠菌群检查阳性菌检出率仅为 90.52%,方法重现性不佳,可能会出现“漏检”现象。结论:为确保化妆品的卫生安全,建议从源头控制微生物传播,加强对面膜类产品的监管,在进行耐热大肠菌群检查前先进行方法适用性试验。

关键词: 化妆品,微生物检验,鉴定,分析,方法适用性

中图分类号:TQ658 文献标识码:A 文章编号:1003-6563(2025)04-0038-07

Analysis of microbial contamination of 418 batches of cosmetics and study on the applicability of detection methods

XUE Yonglan, TENG Yu, ZHOU Yingyou[△]

(Guizhou Food and Drug Inspection Institute, Guiyang 550004, China)

Abstract: In this study we investigated the microbial contamination of cosmetics commercially available in Guizhou Province, and studied the detection of pathogenic bacteria, so as to provide a scientific basis for the supervision and management of cosmetics. According to the Technical Specification for Safety of Cosmetics (2015 edition), the microbiological test samples involved in the national cosmetics supervision sampling undertaken by Guizhou Province in 2023 were inspected, the contaminated bacteria were identified by MALDI-TOF-MS, and the detection of pathogenic bacteria based on the Chinese Pharmacopoeia was studied. Among the 418 batches of samples, 17 batches were found to be unqualified; the unqualified items were aerobic bacterial count, and mold and yeast results, and all the unqualified samples were facial mask products. 63 contaminated bacterial samples were isolated and purified from 31 batches of samples, and 26 bacterial strains were identified; the strains with high detection frequency included *Bacillus* and conditional pathogenic bacterium *Burkholderia cepacia*. The detection rate of thermotolerant coliform bacteria was 90.52%, indicating that the reproducibility of the method was poor. In order to ensure the hygienic safety of cosmetics, it is suggested that the spread of microorganisms be controlled from the source, the supervision of facial mask products be strengthened, and the method applicability test be conducted before the detection of thermotolerant coliform bacteria.

Keywords: cosmetics, microbiological inspection, identification, analysis, method applicability

近年来,随着我国化妆品消费市场的迅猛发展,化妆品的安全问题越来越引起人们的关注^[1]。化妆品安全问题除了化学与物理因素引起外,微生物因素也不容忽视^[2]。化妆品含水量高,营养丰富,极易发生微生物的污染,微生物污染不仅会破坏化妆品的营养成分,加速腐败变质,而且可能引起皮肤感染、诱发炎症,对人体健康安全构成威胁^[3-4]。近几年按《化妆品安全技术规范》(2015年版)(以下简称《规范》)^[5]进行检验,发现我国化妆品控制菌检查合格率极高,2017年至2022年贵州省承担的国家化妆品监督抽检涉及微生物检验的1068批样品中,控制菌检查合格率为100%^[6],余文等^[7]比较了美国 and 国内化妆品控制菌的检出差异,发现美国控制菌的检出较为普遍,国内化妆品控制菌检出率低可能与化妆品防腐剂的影响和现有检验方法的局限,以致未能检出已产生污染的微生物有关^[2]。本文对2023年实验室接受的418批化妆品按《规范》进行微生物检验,对结果进行统计分析和检出的污染菌进行鉴定;针对化妆品控制菌检出率低的现象,照《中国药典》^[8]四部通则1106开展控制菌检查方法适用性研究,以期发现潜在的风险,为保障消费者的健康安全,提高化妆品的卫生质量,以及加强化妆品监督管理提供科学依据^[9]。

1 材料与方法

1.1 主要材料、试剂和仪器

试验样品来源于2023年国家化妆品监督抽检样品,共计418批,包含面膜类产品321批,儿童类产品31批,牙膏32批,普通护肤类产品34批。

卵磷脂吐温80营养琼脂培养基、孟加拉红琼脂培养基、SCDLP液体培养基、十六烷三甲基溴化铵琼脂、双倍乳糖胆盐(含中和剂)培养基、伊红美蓝琼脂培养基、Baird-parker琼脂平板均由北京路桥科技有限公司提供;大肠埃希菌[CMCC(B)44102]、铜绿假单胞菌[CMCC(B)10104]、金黄色葡萄球菌[CMCC(B)26003],均来源于中国食品药品检定研究院。

ZEALWAY高压蒸汽灭菌器,BINDER恒温培养箱,赛默飞1300 SERIES A2生物安全柜,VITEK MS全自动快速微生物质谱检测系统(生物梅里埃公司)。

1.2 试验方法

1.2.1 样品检验

按照《规范》检验。检验项目为菌落总数、耐热大肠菌群、铜绿假单胞菌、金黄色葡萄球菌、霉菌和酵母菌。

1.2.2 评价标准

按照《规范》,菌落总数:眼部、口腔及儿童用化妆品 ≤ 500 cfu/mL(g),其他化妆品 ≤ 1000 cfu/mL(g);霉菌和酵母菌 ≤ 100 cfu/mL(g);控制菌耐热大肠菌群、铜绿假单胞菌、金黄色葡萄球菌不得检出。凡出现 ≥ 1 项指标不符合标准的判定为不合格样品。

1.2.3 菌株鉴定

样品中检出的污染菌,经分离,采用TSA平皿纯化并于30~35℃培养24h,挑取单个菌落涂布于MALDI靶板的靶点上,覆盖1 μ L基质,待完全干燥后通过VITEK MS全自动快速微生物质谱检测系统进行鉴定。

1.2.4 控制菌方法适用性研究

借鉴《中国药典》四部通则1106中控制菌检查法思路,对涉及微生物检验的产品,按《规范》开展耐热大肠菌群、铜绿假单胞菌和金黄色葡萄球菌检验的同时,分别以大肠埃希菌、铜绿假单胞菌、金黄色葡萄球菌作为阳性菌,同法制备阳性对照组,加菌量均不大于100 CFU,以考察现行《规范》检验方法对上述3类菌的适用性。

对耐热大肠菌群检验未检出阳性菌的样品,通过加入中和剂、增加培养基体积等方法消除抑菌活性,中和剂的加入种类及加入量照《化妆品防腐剂挑战试验》T/SHRH 017—2019中的附录表B.1防腐剂和洗涤液的中和剂抗菌性^[10]。

2 结果与讨论

2.1 样品微生物污染结果

2.1.1 微生物检验结果总体分析

此次涉及微生物检验的418批样品中,合格样品401批,总合格率95.9%,不合格的样品17批,不合格项目为菌落总数、霉菌和酵母菌,其中有17

批样品菌落总数不合格,不合格率为 4.1%;12 批样品霉菌和酵母菌不合格,不合格率为 2.9%。控制菌耐热大肠菌群、金黄色葡萄球菌、铜绿假单胞菌均未检出,合格率 100%,如表 1 所示。

表 1 2023 年化妆品微生物检验总体情况

项 目	样品数量/批	不合格数量/批	不合格率/%
菌落总数	418	17	4.1
霉菌和酵母菌总数	418	12	2.9
耐热大肠菌群	418	0	0
金黄色葡萄球菌	418	0	0
铜绿假单胞菌	418	0	0

2.1.2 不合格样品污染程度分析

不合格样品菌落总数、霉菌和酵母菌结果分布情况见表 2。菌落总数结果主要集中在超标准上限的 5~50 倍,即 $5.0\times 10^3\sim 5.0\times 10^4$ cfu/g (mL);霉菌和酵母菌结果主要集中在超标准上限的 1~5 倍,即 $1.0\times 10^2\sim 5.0\times 10^2$ cfu/g (mL)。可见不合格样品中,菌落总数的污染更为严重。

表 2 不合格样品微生物检验结果分布

超限范围	不合格项目样品分布/批	
	菌落总数	霉菌和酵母菌总数
1~5 倍	2	8
5~10 倍	5	2
10~50 倍	9	2
50~100 倍	1	0

2.1.3 被抽检单位类型分析

418 批样品的被抽样单位类型分布如图 1 所示,占比前三的依次为小商店、零售连锁店、集中交易市场。不合格样品来源如表 3 所示,不合格率依次为小商店>集中交易市场>美容美发机构>超市,提示上述场所售卖的产品存在微生物污染的概率相

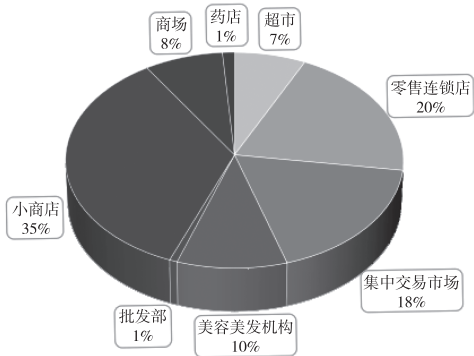


图 1 被抽样单位类型分布

对较大,而零售连锁店和大型商场售卖的产品存在微生物污染的风险相对较小,药店和批发部因抽样数量较少,不具有统计学意义。

表 3 不同类型抽样单位化妆品微生物污染情况分布

被抽样单位类型	抽样数量/批	不合格数量/批	不合格率/%
超市	30	1	3.33
零售连锁店	84	0	0
集中交易市场	75	4	5.33
美容美发机构	42	2	4.76
批发部	3	0	0
小商店	146	10	6.85
大型商场	33	0	0
药店	5	0	0

2.1.4 生产企业来源分析

418 批样品生产企业分布情况见图 2,占比前三的企业为广东省、国外进口、上海市。本次不合格样品均来源于广东省(表 4),分别为广州市 15 批、佛山市 2 批,提示广州市和佛山市生产的化妆品存在微生物污染的概率相对较大。

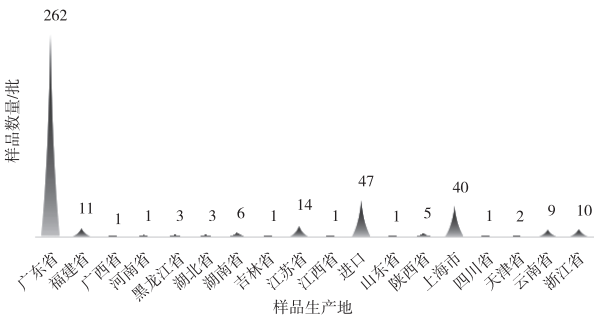


图 2 样品生产企业来源分布

表 4 生产地来源于广东省的样品微生物检验结果

样品生产地	样品数量/批	不合格样品/批	不合格占比/%
广东省广州市	188	15	8.0
广东省佛山市	24	2	8.3
广东省中山市	22	0	0
广东省汕头市	13	0	0
广东省惠州市	3	0	0
广东省清远市	3	0	0
广东省云浮市	3	0	0
广东省珠海市	2	0	0
广东省深圳市	2	0	0
广东省东莞市	2	0	0

2.1.5 不同类型样品分析

微生物检验结果分布情况见表 5,不合格的 17 批样品均为面膜类产品,包括 15 批涂抹式面膜和 2 批贴片式面膜,占比分别为 9.8%、1.2%。可见面膜类产品较其他类型化妆品微生物污染的风险更

大,而涂抹式面膜较贴片式面膜更易造成微生物污染。此外不合格的 15 批涂抹式面膜均为海藻面膜,数量在本次抽样的涂抹式海藻面膜中占比 36.6% (15/41),不合格概率较高,提示涂抹式海藻面膜更易造成微生物污染。

表 5 不同类别化妆品微生物检验结果

产品类型		样品数量	不合格数量	不合格占比
		/批	/批	/%
面膜类产品	贴片式	168	2	1.2
	涂抹式	153	15	9.8
儿童类产品		31	0	0
牙膏		32	0	0
普通护肤类产品		34	0	0
总计		418	17	4.1

2.1.6 污染菌鉴定

此次收集到的污染菌均来自于面膜类产品,31 批有污染菌生长的样品中,分离纯化出 63 份污染菌样本,采用 MALDI-TOF-MS 进行鉴定,结果共鉴定出 26 株菌。其中检出芽孢杆菌属 10 株,包括解淀粉芽孢杆菌 *Bacillus amyloliquefaciens* (检出 11 次),蜡样芽孢杆菌 *Bacillus cereus group* (检出 10 次),巨大芽孢杆菌 *Bacillus megaterium* (检出 7 次),纺锤形赖氨酸杆菌 *Lysinibacillus fusiformis* (检出 5 次),高地芽孢杆菌 *Bacillus altitudinis* (检出 2 次),其余地衣芽孢杆菌 *Bacillus licheniformis*、梭形赖氨酸芽孢杆菌 *Lysinibacillus fusiformis*、解硫酸素芽孢杆菌 *Aneurinibacillus aneurinilyticus*、溶硫酸类芽孢杆菌 *Paenibacillus thiaminolyticus*、简单芽孢杆菌 *Bacillus simplex* 均各检出 1 次,共检出 40 次,占比 63.49%;检出伯克霍尔德菌属 2 株,包括洋葱伯克霍尔德菌 *Burkholderia cepacia* 和越南伯克霍尔德氏菌 *Burkholderia vietnamiensis*,各检出 1 次,占比 3.17%;检出肠杆菌属 3 株,包括阴沟肠杆菌 *Enterobacter cloacae* (检出 2 次),伤口肠杆菌 *Pseudoescherichia vulneris* 和霍氏肠杆菌 *Enterobacter hormaechei* (各检出 1 次),共检出 4 次,占比 6.40%;检出不动杆菌属 2 株,包括皮特不动杆菌 *Acinetobacter pittii* (检出 2 次)和拜氏不动杆菌 *Acinetobacter beijerinckii* (检出 1 次),共检出 3 次,占比 4.76%;检出泛生菌属 2 株,包括分散泛生菌 *Pantoea dispersa* 和成团泛生菌 *Pantoea agglomerans*,各检出 1 次,占比 3.17%;检出肠球菌属 1 株,为铅黄肠球菌 *Enterococcus casseliflavus*,检出 3 次,占比 4.76%;检出假单胞菌属 1 株,

为恶臭假单胞菌 *Pseudomonas putida*,检出 2 次,占比 3.17%;检出勒克氏菌属 1 株,为非脱羧勒克氏菌 *Leclercia adecarboxylata*,检出 2 次,占比 3.17%;检出克雷伯菌属 1 株,为肺炎克雷伯菌 *Klebsiella pneumoniae*,检出 1 次,占比 1.59%;检出弗朗哥氏菌属 1 株,为瑞士弗朗哥氏菌 *Franconibacter helveticus*,检出 1 次,占比 1.59%;检出真菌 2 株,包括烟曲霉 *Aspergillus fumigatus*,检出 2 次,黄曲霉 *Aspergillus flavus/oryzae*,检出 1 次,共检出 3 次,占比 4.76%。如图 3 所示。

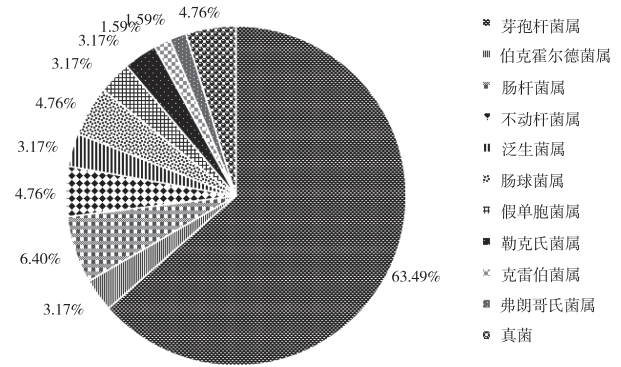


图 3 经分离鉴定的菌种分类及占比

2.2 控制菌方法适用性研究

涉及微生物检验的 418 批样品,在按《规范》进行控制菌检验的同时,同法加入不大于 100 cfu 的试验菌作阳性对照,探索现行《规范》控制菌检验方法对目标菌的检出能力。结果表明,金黄色葡萄球菌和铜绿假单胞菌检查均检出阳性菌,耐热大肠菌群检验有 40 批样品未检出阳性菌,分布于不同类型化妆品中,未检出率 9.6%,如表 6 所示。可见因化妆品本身的抑菌性,照《规范》进行耐热大肠菌群检验易出现“假阴性”结果,造成“漏检”现象,建议在检验前先进行方法适用性试验,提高阳性菌的检出率。

表 6 不同类型化妆品阳性菌未检出情况

产品类型	检验数量 /批	阳性对照未检出					
		耐热大肠菌群		金黄色葡萄球菌		铜绿假单胞菌	
		数量 /批	占比 /%	数量 /批	占比 /%	数量 /批	占比 /%
面膜类产品	321	29	9.0	0	0	0	0
儿童类产品	31	4	13.0	0	0	0	0
牙膏	32	2	6.3	0	0	0	0
普通护肤 类产品	34	5	14.7	0	0	0	0
总计	422	40	9.6	0	0	0	0

从 40 批未检出阳性菌的样品中,随机抽取 10 批样品,对耐热大肠菌群检查进行方法适用性研究。前期试验发现多批化妆品制成 1 : 10 供试液,取 10 mL 薄膜过滤易堵塞滤膜致使无法过滤,薄膜过滤法可操作性不强,故本次选取中和剂法或培养基稀释法进行研究。样品成分表中防腐剂的类型及试验结果见表 7,根据防腐剂类型,选择卵磷脂、吐温 80、脂肪醇环氧乙烷冷凝液作为中和剂。结果表明,①增加卵磷脂和吐温 80 的使用量并不能提高阳性菌的检出率;②中和剂中增加脂肪醇环氧乙烷冷凝液后阳性菌的检出率提高了 50%,仍有 50% 样品未检出阳性菌;③将双倍乳糖胆盐(含中和剂)培养基的体积增至 50 mL,10 批样品均全部检出阳性菌。

表 7 耐热大肠菌群检查方法适用性试验结果

样品名称	类型	样品配方表中 防腐剂种类	试验菌:大肠埃希菌(53cfu)		
			①	②	③
G1	护肤类	苯氧乙醇	-	-	+
G2	护肤类	苯氧乙醇	-	-	+
G3	面膜类	羟苯甲酯	-	+	+
G4	面膜类	苯氧乙醇、山梨酸钾	-	+	+
G5	面膜类	苯氧乙醇、甲基异噻唑啉酮	-	-	+
		苯氧乙醇、双(羟甲基)咪唑烷基脲、羟苯甲酯、碘丙炔醇丁基甲酰胺	-	+	+
G6	面膜类	苯氧乙醇	-	+	+
G7	面膜类	双(羟甲基)咪唑烷基脲、羟苯甲酯、羟苯丙酯	-	-	+
G8	儿童类	双(羟甲基)咪唑烷基脲、羟苯甲酯、羟苯丙酯	-	-	+
G9	儿童类	邻伞花烃-5-醇	-	+	+
G10	面膜类	邻伞花烃-5-醇	-	+	+

注:①代表稀释液为含中和剂(3% (g/mL) 聚山梨酯 80 和 0.3% (g/mL) 卵磷脂)的 90 mL 生理盐水,耐热大肠菌群检查双倍乳糖胆盐(含中和剂)培养基体积为 10 mL;②代表稀释液为含中和剂(0.7% (g/mL) 脂肪醇环氧乙烷冷凝液、2% (g/mL) 卵磷脂、0.4% (g/mL) 聚山梨酯 80)的 90 mL 生理盐水,耐热大肠菌群检查双倍乳糖胆盐(含中和剂)培养基体积为 10 mL;③代表稀释液为 90 mL 生理盐水,双倍乳糖胆盐(含中和剂)培养基体积为 50 mL;“-”表示未检出试验菌;“+”表示检出试验菌。

为避免“漏检”现象的发生,对未检出试验菌的 40 批样品,开启留样再测,通过增加双倍乳糖胆盐(含中和剂)培养基的体积至 50 mL 和 100 mL,重新

进行耐热大肠菌群检查,同法制备阳性对照。结果表明,40 批次样品均未检出耐热大肠菌群,阳性对照培养基体积为 50 mL 时有 3 批未检出阳性菌、100 mL 时全部检出阳性菌。

2.3 讨论

2.3.1 微生物污染情况

此次微生物检验不合格结果为菌落总数、霉菌和酵母菌,结果超出限度指标,特别是菌落总数,污染更严重,超限更多。菌落总数是反映化妆品的新鲜程度和卫生状况的微生物重要指标,超标易引起皮炎等皮肤病,危害人体健康安全;霉菌超标不仅会使化妆品霉败变质,大量霉菌毒素也会危害健康;酵母菌超标可能会导致皮肤黏膜受损等疾病^[4]。

本次微生物检验结果不合格的样品主要抽样于小商店、集中交易市场、美容美发机构,而大型商场和零售连锁店抽检的样品微生物检验结果均在合格范围内,原因可能与产品价格及零售连锁店实施的采购地严格考察、库存信息化等管理措施有关^[11],也反映出小商店、集中交易市场、美容美发机构等场所销售的化妆品卫生状况相对较差,微生物污染概率较大。

广东省化妆品产业规模大、市场占有率高、分布范围广^[12],本次抽样占比 62.7% (262/418),抽样基数大,致使不合格批次占比较多;同时也提示广东化妆品生产企业质量控制能力差距较大,一些小微企业的生产环境条件和质控能力有待加强,特别是广州市不合格的 15 批次样品中,7 批次来自于同一生产企业,提示该企业生产和储藏环节可能存在有较大的微生物卫生污染的风险。

不合格的样品均为面膜类产品,面膜富含丰富的胶原蛋白和氨基酸^[13],水分活度也较高^[14],为微生物生长提供了所需的营养成分,在适合的条件下会大量繁殖。15 批不合格涂抹式海藻面膜成分均极为简单,基本均为海藻提取物加 2~5 种具保湿或皮肤调节功能的成分组成,均未添加防腐剂,缺乏抑菌、灭菌能力,加之海藻提取物富含丰富的氨基酸、维生素等营养元素,在生产和流通过程中若控制不当,很容易滋生微生物^[15]。

污染菌是导致菌落总数、霉菌和酵母菌总数超标的主因,化妆品虽为外用产品,但污染菌的危害也不容小觑,如检出频次较高的蜡芽孢杆菌,可引起

手术后或外伤伤口及眼部的局部感染^[16];此外洋葱伯克霍尔德菌对于免疫功能低下的人群可能会导致肺炎、伤口感染和败血症等感染,美国 FDA 已将其列为不可接受微生物^[17]。

2.3.2 控制菌方法适用性

按现行《规范》进行控制菌检查,金黄色葡萄球菌和铜绿假单胞菌阳性菌的检出率为 100%,方法重现性好;耐热大肠菌群阳性菌未检出率为 9.6%,方法重现性不佳,可能会出现“漏检”现象,危害消费者健康,建议在检验前先进行方法适用性试验,提高目标菌的检出率。

培养基中常用的中和剂吐温 80 和卵磷脂只能降低部分防腐剂的抑菌效果,卵磷脂中和季铵盐,吐温 80 主要针对的是酚、福尔马林等^[4],对于化妆品中苯基乙醇、对羟基苯甲基酯等防腐剂的中和效果不显著。脂肪醇环氧乙烷冷凝液配合吐温 80 和卵磷脂能消除部分抑菌活性,但仍不能消除全部样品的抑菌活性,可见中和剂对不同防腐剂的中和效果存在差异,对同一防腐剂因用量不同中和效果也存在差异,可针对不同防腐体系选择适合的中和剂消除抑菌活性,但防腐剂体系庞大,仅现行《规范》中可供选择的防腐剂就有多达 51 种,还有很多不在《规范》目录中的无添加防腐剂,该法给检验工作带来巨大的工作量和难度。增加双倍乳糖胆盐(含中和剂)培养基的体积能更有效地提高耐胆盐革兰阴性菌的检出率,较大程度地减低“漏检”现象^[18]。

3 结论

本次对 418 批化妆品进行微生物检验,不合格样品 17 批,不合格率 4.1%,不合格项目为需氧菌总数、霉菌和酵母菌,不合格样品均为面膜类产品。从被抽检单位类型来看,小商店、集中交易市场、美容美发机构抽检样品不合格概率更高;从样品生产企业来源来看,广东省广州市、佛山市生产的样品不合格概率更高;从样品类型来看,面膜类产品特别是涂抹式海藻面膜不合格的概率更高。建议监管部门增加上述售卖场所、生产地、样品类型的抽样比例,有针对性地加大监管力度;同时出台相应的管理规程,对生产水系统、原料、操作环境、人员操作、包装等方面作相应规定^[19],规范企业日常生产行为,从

源头控制污染菌的传播^[20]。

此外,因化妆品防腐剂种类繁多、含量也不尽相同,选择适合的中和剂消除化妆品中防腐剂抑菌活性可操作性不强;增加双倍乳糖胆盐(含中和剂)培养基的体积至 50 mL 甚至 100 mL,可较大程度地提高不同品种化妆品耐热大肠菌群检验阳性菌的检出率,方法简单,可操作性强。建议考虑将“扩大培养基体积”作为“耐热大肠菌群”检验方法的修订方向。

参考文献【REFERENCES】

- [1] 王小燕. 微生物检验在化妆品检验中的应用[J]. 生物化工, 2019, 5(2): 167-168.
- [2] 曹婷婷, 江艳芳, 林铁豪. 508 批化妆品微生物检验结果及方法的初步研究[J]. 香料香精化妆品, 2020(6): 29-32.
- [3] 翟自芹, 左玥华, 王华, 等. 6209 件化妆品的微生物检测结果[J]. 香料香精化妆品, 2022(5): 56-59.
- [4] 陈海燕, 李聪, 苏敏仪, 等. 2020 年广东省生产领域化妆品安全监督监测结果分析[J]. 香料香精化妆品, 2022(5): 72-76.
- [5] 国家食品药品监督管理总局, 化妆品标准专家委员会. 化妆品安全技术规范[S]. 2015 年版. 北京: 人民卫生出版社, 2017.
- [6] 滕钰, 周映佑, 薛咏兰, 等. 2017—2022 年贵州省化妆品监督抽检微生物检验结果分析[J]. 香料香精化妆品, 2024(1): 126-131.
- [7] 余文, 安琳, 陈怡文, 等. 化妆品中致病菌检测规范方法和微生物富集方法的评价[J]. 香料香精化妆品, 2023(5): 17-24.
- [8] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典: 四部[S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2020.
- [9] 王涛, 谭慧敏, 朱斌. 2018—2020 年广西化妆品微生物污染状况分析及污染菌鉴定[J]. 日用化学工业, 2023, 53(2): 233-238.
- [10] 上海日用化学品行业协会. 化妆品防腐剂挑战试验: T/SHRH 017—2019[S]. 2019.
- [11] 胡日生. 化妆品零售连锁企业存货采购及管理研究[J]. 大众投资指南, 2023(2): 44-46.
- [12] 吴姣娇, 涂晓琴, 尹伟成, 等. 海藻面膜类化妆品检测结果分析及监管建议[J]. 香料香精化妆品, 2022(1): 68-72.
- [13] 孙晶, 蔺静, 王小兵等. 2016 年—2020 年全国微生物不合格市售化妆品的特征分析[J]. 中国卫生检验杂志, 2022, 32(2): 241-243.
- [14] 鲍方名, 李倩, 谢逸人, 等. 2018—2020 年苏州地区化妆品微生物污染情况分析[J]. 卫生研究, 2023, 52(2): 309-312.
- [15] 李祥胜, 李翔, 高瑞芳, 等. 安徽省 2020 年国家化妆品监督抽检结果分析[J]. 香料香精化妆品, 2022(3): 39-43.

贵州紫云地区沼水蛙的分子鉴定*

王 巍,熊荣川[▲],陈 红,严佳乐,李小华,陈 梦,黄 影,田景璇

(六盘水师范学院生物科学与技术学院,贵州 六盘水 553004)

摘 要: 目的:为了探究于 2018 年 8 月在贵州省安顺市紫云县宗地乡采集到的 5 个蛙类标本的物种归属。方法:对采自贵州紫云县的沼水蛙标本进行 DNA 提取,并克隆其线粒体 16S rRNA 基因片段,使用分子系统发育学研究方法对其物种进行初步的分子鉴定。结果:紫云蛙类样本 16S rRNA 基因序列与 17 条沼水蛙同源序列聚为一个支持率较高的单系,且与沼水蛙近模式产地(福建福州)一标本的 16S rRNA 基因序列遗传距离较小,小于本研究中的多数种内平均遗传距离。结论:初步判断该标本属沼水蛙(*Sylvirana guentheri*)。

关键词: 沼水蛙,16S rRNA,分子鉴定,紫云

中图分类号:Q959.3 文献标识码:A 文章编号:1003-6563(2025)04-0044-05

Molecular identification of *Sylvirana guentheri* from Ziyun, Guizhou*

WANG Wei, XIONG Rongchuan[▲], CHEN Hong, YAN Jiale, LI Xiaohua, CHEN Meng, HUANG Ying, TIAN Jingxuan

(School of Biological Science and Technology, Liupanshui Normal University, Liupanshui 553004, China)

Abstract: In August 2018, five specimens of frogs were collected in Zongdi Town, Ziyun County, Anshun City, Guizhou Province. DNA extraction and cloning of mitochondrial 16S rRNA gene fragment of the specimens were carried out for further molecular phylogenetic analysis. The results showed that the 16S rRNA gene sequences of Ziyun frogs and 17 homologous sequences of *Sylvirana guentheri* were clustered into a monophyletic clade with high support rates, and the genetic distance between the 16S rRNA gene sequences of Ziyun frogs and the homologous sequence of a sample collected near the type locality of *Sylvirana guentheri* (Fuzhou, Fujian) was smaller than the average intraspecific distance of most species in this study. Therefore, it is preliminarily determined that the specimens belong to *Sylvirana guentheri*.

Keywords: *Sylvirana guentheri*, 16S rRNA, molecular identification, Ziyun

[16] TAVARES M, KOZAK M, BALOLA A, et al. *Burkholderia cepacia* complex bacteria: a feared contamination risk in water-based pharmaceutical products[J]. *Clinical microbiology reviews*, 2020, 33(3): 10.1128/cmr.00139-19.

[17] 林宇华, 刘海英, 曾耀婵, 等. 十种化妆品防腐效力评价与实际效果的关系[J]. *广州化工*, 2015, 43(24): 101-103.

[18] 何冬华, 崔碧玲, 黄佳慧, 等. 儿童化妆品检查及控制菌检查方法适用性研究[J]. *食品与药品*, 2024, 26(1): 70-76.

[19] 李海芳, 古丽巴哈尔·托乎提, 张明君, 等. 2016—2018 年新疆化妆品微生物检验结果分析[J]. *中国卫生检验*

杂志, 2020, 30(8): 937-940.

[20] 杨泽华, 王湘波. 国家化妆品监督抽检问题分析及监管建议[J]. *日用化学科学*, 2020, 43(9): 17-21.

收稿日期: 2024-09-28; 修回日期: 2024-10-10

作者简介: 薛咏兰, 主管药师, 研究方向: 药品及化妆品微生物检验及研究。

▲通讯作者: 周映佑, 高级工程师, 研究方向: 药品及化妆品微生物检验及研究。

沼水蛙主要分布在中国北纬 31°以南各省(区),在越南、老挝也有分布^[1]。据记载,沼水蛙在贵州主要分布在东部和南部地区,例如黔东南(雷山、榕江、黎平)、铜仁(印江、德江、江口、松桃)、遵义(仁怀、桐梓、绥阳、赤水)、黔南(贵定、荔波、罗甸、三都)及黔西南(望谟)等^[1],贵阳和毕节(毕节、大方、金沙)也有分布^[2-3]。然而,至今仍然没有安顺、六盘水等贵州西部地区是否有沼水蛙分布的文献记载。另外,有关贵州地区沼水蛙的研究报道,多基于形态学研究,基于分子标记的系统发育研究相对较少^[4]。熊荣川等^[5]基于线粒体 COI 基因,专题研究了贵州高原分布沼水蛙的系统发育地位,发现贵州高原对于沼水蛙内部种群分化有明显的隔离作用,在贵州地区开展基于分子标记的沼水蛙系统发育学研究具有一定的理论意义。

本研究于 2018 年 8 月在贵州省安顺市紫云县宗地乡采集到 5 个蛙类标本,经初步形态鉴定为沼水蛙(*Sylvirana guentheri*),但之前并没有该物种在安顺地区分布的文献记载,因此有必要使用分子手段对其分类地位进行准确界定。本文对采自贵州紫云县的沼水蛙标本进行 DNA 提取,并克隆其线粒体 16S rRNA 基因片段(以下简称 16S 基因序列),使用分子系统发育学研究方法对其物种进行初步的分子鉴定。

1 材料与方法

1.1 标本信息

沼水蛙(*Sylvirana guentheri*)标本为 2018 年 8 月采自贵州省安顺市紫云县宗地乡的 5 号标本(表 1),保存于六盘水师范学院动物标本馆。

1.2 总 DNA 提取及目的基因片段的扩增

分子样品制备、DNA 提取及目的基因片段的 PCR 扩增方法参照本课题组之前的研究^[6],扩增所得目标 DNA 片段委托上海生工生物工程有限公司(成都)进行纯化和测序。所扩增目的序列对应阔褶水蛙 *Sylvirana latouchii* 线粒体基因组(Genbank 索取号 MN241431)2281-2842 bp 区间位置,对应阔褶水蛙 16S rRNA 全基因(Genbank 索取号 MN241431)841-1402 bp 区间位置。

表 1 本研究中 16S 序列信息

序号	物 种	Genbank 索取号	本 号	采集地	数据 来源
1	<i>Sylvirana guentheri</i>	MT560385	LPSZY2018081111	贵州紫云	本研究
2	<i>Sylvirana guentheri</i>	MT560386	LPSZY2018081112	贵州紫云	本研究
3	<i>Sylvirana guentheri</i>	MT560387	LPSZY2018081113	贵州紫云	本研究
4	<i>Sylvirana guentheri</i>	MT560388	LPSZY2018081114	贵州紫云	本研究
5	<i>Sylvirana guentheri</i>	MT560389	LPSZY2018081115	贵州紫云	本研究
6	<i>Sylvirana guentheri</i>	AB859216	LPS13008	四川泸县	[10]
7	<i>Sylvirana guentheri</i>	AF206476	ROM 12573	越南	[11]
8	<i>Sylvirana guentheri</i>	AF285215	TZ829	未知	Genbank
9	<i>Sylvirana guentheri</i>	AF315151	未知	广东广州	[12]
10	<i>Sylvirana guentheri</i>	AY322287	VUB 0693	越南	[13]
11	<i>Sylvirana guentheri</i>	DQ283265	未知	越南	[14]
12	<i>Sylvirana guentheri</i>	DQ283267	未知	越南	[14]
13	<i>Sylvirana guentheri</i>	DQ360001	SCUMH002	海南三亚	[13]
14	<i>Sylvirana guentheri</i>	EU754860	ZFMK 86372	越南	[15]
15	<i>Sylvirana guentheri</i>	KF185060	HNNU060435	福建福州	[16]
16	<i>Sylvirana guentheri</i>	KR827771	294D	越南	[17]
17	<i>Sylvirana guentheri</i>	KR827772	2007.6264	越南	[17]
18	<i>Sylvirana guentheri</i>	KR827773	2007.625	越南	[17]
19	<i>Sylvirana guentheri</i>	KU840580	0005H	海南	[18]
20	<i>Sylvirana guentheri</i>	KU840582	AMS171666	越南	[18]
21	<i>Sylvirana guentheri</i>	KX269219	SCUMH002CJ	海南三亚	[19]
22	<i>Hylarana cf. umeralis</i>	KM069010	SDBDU 2009.1094	印度	[20]
23	<i>Humerana sp.</i>	KR264090	USNM583186	缅甸	[21]
24	<i>Humerana miopus</i>	EU604196	未知	未知	Genbank
25	<i>Humerana lateralis</i>	AF206478	ROM 22153	越南	[11]
26	<i>Humerana lateralis</i>	AF206479	USNM 520399	缅甸	[20]
27	<i>Humerana lateralis</i>	KF991279	ZFMK;92555	柬埔寨	[22]
28	<i>Humerana lateralis</i>	MC935828	USNM;Herp;523999	缅甸	[23]
29	<i>Humerana lateralis</i>	MC935830	USNM;Herp;524000	缅甸	[23]
30	<i>Humerana lateralis</i>	MC935831	MBM-JBS19852	缅甸	[23]
31	<i>Humerana humeralis</i>	KU589223	IASST AS70	印度	[23]
32	<i>Humerana humeralis</i>	KU589224	IASST AS71	印度	[23]
33	<i>Humerana humeralis</i>	MC935823	USNM;Herp;583171	缅甸	[23]
34	<i>Amnirana cf. guentheri</i>	AF206494	ROM 25908	越南	[11]

1.3 参考基因序列下载及系统发育分析

将所测得的沼水蛙 16S 基因序列经过上传 GenBank 进行搜索比对(megablast),下载 Genbank 中的 17 条沼水蛙 16S 序列作为参考序列,同时下载亲缘关系较近的 *Humerana lateralis*,*Humerana humeralis*,*Humerana miopus* 16S 序列作为外群序列与待测基因序列一起构成序列数据集。参照本课题组之

前的研究方法^[7],对数据集进行比对编辑,筛选适合本数据集的模型(K2+G),使用 MEGA X^[8]构建最大似然树(Maximum likelihood tree, ML tree)、邻接树(Neighbor-Joining Tree, NJ tree)和最大简约树(Maximum Parsimony Tree, MP tree),使用 Mr-bayes3. 2^[9]构建贝叶斯树(Bayesian inference tree, BI tree)。

1.4 遗传距离计算

选用 MEGA X^[8],依据 Kimura2-parameter 模型计算成对序列间的遗传距离,在此基础上,根据序列所属的支系,计算支系间以及支系内的遗传距离。使用 R 语言 ggplot2^[24],绘制支系间及支系内遗传距离数据的密度分布曲线,探明沼水蛙及近缘物种在 16S 基因上的种间及种内遗传距离的主要分布区域。同时,计算沼水蛙支系内自测序列与其他沼水蛙同源序列之间的遗传距离(表 2, N01A VS N01B)以探究紫云种群的分化程度。

表 2 本研究中支系间及支系内 16S 序列遗传距离信息表

比较支系组合	最小值	最大值	平均值
N01 VS N02	0.070	0.102	0.076
N01 VS N03	0.077	0.125	0.090
N01 VS N04	0.071	0.129	0.085
N02 VS N03	0.077	0.086	0.083
N02 VS N04	0.102	0.104	0.103
N03 VS N04	0.098	0.116	0.106
N01 VS N01	0.000	0.016	0.005
N03 VS N03	0.000	0.025	0.012
N04 VS N04	0.000	0.059	0.030
N01A VS N01B	0.000	0.012	0.004

2 结果

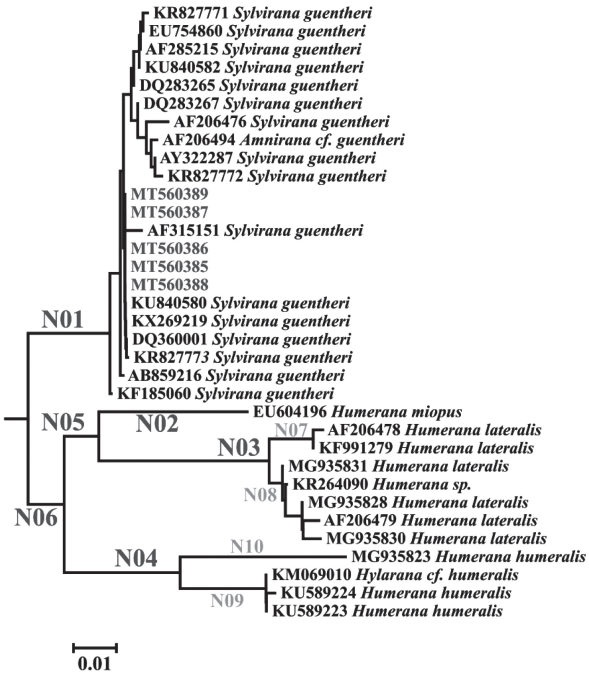
2.1 PCR 扩增及测序结果

经 1% 琼脂糖凝胶电泳检测,引物 P7/P8 扩增到 560 bp 左右的基因片段(GenBank 索取号: MT560385- MT560389)。序列碱基组成存在明显的偏向性:AT 含量较高(A:30.4%, T:24.2%);GC 含量较低(G:20.4%, C:24.9%)。

2.2 支系分化

将所测得的沼水蛙 16S 基因序列提交 Genbank

进行搜索比对,其与 Genbank 中的已有沼水蛙序列(AB859216)相似度最高,下载 17 条沼水蛙 16S 序列作为参考序列,同时下载亲缘关系较近的 *Humerana lateralis*, *Humerana humeralis*, *Humerana miopus* 16S 序列作为外群序列与待定基因序列一起构成 16S 序列数据集。基于不同的系统发育分析方法(ML、BI、NJ、MP)对该数据集构建的系统发育树,都支持本研究的自测序列与 17 条沼水蛙线粒体 16S 基因序列聚为一个单系(图 1,序列基本信息见表 1)。同时, *Humerana lateralis*, *Humerana humeralis*, *Humerana miopus* 等外群物种的 16S 基因序列也都分别形成支持率较高的独立支系(图 1)。 *Humerana lateralis*(N03), *Humerana humeralis*(N04) 两个支系内部分别有一个支持率较高的支系(N07、N09)。



	N01	N03	N04	N05	N06	N07	N08	N09
BI	99	100	100	97	99	100	64	99
ML	85	95	91	84	85	99	64	75
MP	100	100	83	65	100	99	69	99
NJ	100	100	99	80	100	100	79	100

图 1 基于 16S 序列数据集构建的邻接树及相关支系在不同方法构建的系统发育树中的支持率

2.3 遗传距离

各支系内序列间的遗传距离多在 0.03 以内,支系间遗传距离多在 0.07 以上(表 2,图 2)。较为特殊的是,支系 N04 内部序列间遗传距离分布在两个

互不重叠的区间(图2)。

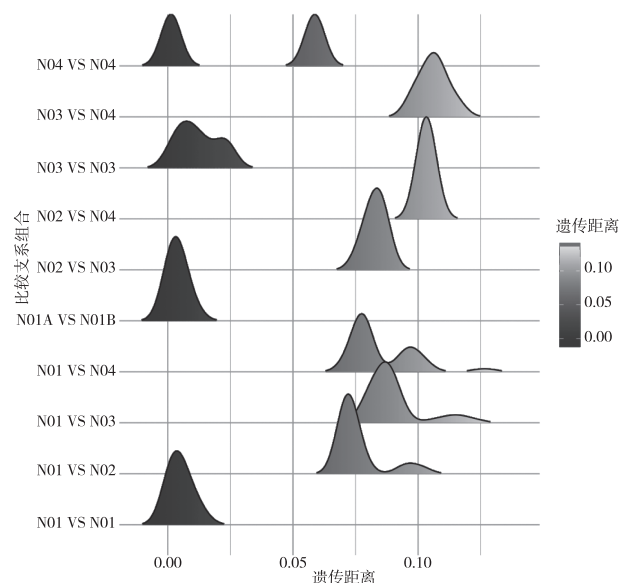


图2 本研究中支系间及支系内 16S 序列遗传距离密度分布山脊图

3 结论与讨论

3.1 支系分化及遗传距离

本研究成功扩增了贵州省紫云县沼水蛙标本的线粒体 16S rRNA 基因部分序列,经过邻接法(NJ)、最大简约法(MP)、最大似然法(ML)和贝叶斯法(BI)等不同推断方法的系统发育分析,自测序列与沼水蛙同源序列以较高的支持率聚为一个独立支系(N01)。同时,外群(*Humerana lateralis*, *Humerana humeralis*, *Humerana miopus*)分别形成3个支系(N02、N03及N04),且基于4种不同的系统发育树构建方法都得到了较高的支持率(图1)。根据Genbank数据,N03支系中的序列都记载为*Humerana lateralis*,且该支系自身支持率较高,将其作为一个物种级别支持支系有一定的依据。同时,支系内部,4种系统发育分析方法都支持进一步分化为N07和N08两个独立支系,且N07支持率也较高,存在两个物种级隐藏支系的可能。支系N04也存在类似的情况。

N01和N03支系内部序列间遗传距离较低,其分布也与相应的支系间遗传距离无重叠,说明为独立的物种级支系,N01为沼水蛙 *Sylvirana guentheri*,

N03为*Humerana lateralis*。N02支系虽只有1条序列,但与其他支系的遗传距离分布(如N01 VS N02, N02 VS N03)呈种间遗传距离分布特征,也应为物种级支系,即*Humerana miopus*。N04支系内遗传距离分布在两个互不重叠的区间,区间1(左)呈种内遗传距离分布特征,区间2(右)与所有种内遗传距离分布区间不重叠,但与种间遗传距离分布有重叠。加之支系内分成两个支持率较高的支系(图1,N09、N10),N09样品来自印度,N10样品来自缅甸(表1),两地存在一定的空间区隔,因此推测N04支系内部含有两个物种,即*Humerana humeralis*内可能有隐藏种存在。

3.2 沼水蛙紫云种群分子鉴定

本研究中自测序列和沼水蛙参考序列聚为一个支持率较高的支系(N01支系)。一般认为,贝叶斯支持率大于95%^[25],最大似然法支持率大于70%^[26]时视为该支系得到充分解决(强支持)。同时,自测序列与一条近模式产地种群序列(KF185060,产地福建福州)的遗传距离为0.0038,小于16S序列数据集整体的种内平均遗传距离(表2),同时也小于大多数支系(N01、N02、N03、N04)的种内平均遗传距离。自测序列与其他沼水蛙同源序列间的遗传距离(N01A VS N01B)未超出种内遗传距离区间(图2)。因此,以上证据支持本研究标本应属于沼水蛙。

4 感谢

感谢生物科学与技术学院范志艳、朱楚玉和赵文杰等同学在实验室工作方面提供的帮助。

参考文献【REFERENCES】

- [1] 费梁,胡淑琴,叶昌媛,等.中国动物志:两栖纲:下卷:无尾目蛙科[M].北京:科学出版社,2009:1246-1251.
- [2] 王延斌.贵州金沙冷水河自然保护区两栖动物调查[J].贵州农业科学,2010,38(11):191-193.
- [3] 冯权江,李明,汪莎莎,等.贵州黎平地区沼水蛙的分子鉴定[J].自然科学,2024,12(3):551-560.
- [4] CHE J, CHEN H, YANG J, et al. Universal COI primers for DNA barcoding amphibians[J]. Molecular ecology resources, 2012, 12(2):247-258.
- [5] 熊荣川,田应洲,李松,等.贵州高原分布沼水蛙系统

- 发育地位的初步研究[J]. 六盘水师范学院学报, 2014, 26(4): 55-59.
- [6] 朱思瑾, 张细林, 张爽, 等. 重庆酉阳分布寒露林蛙的分子鉴定[J]. 自然科学, 2018, 6(1): 1-8.
- [7] 韩丹, 余文华, 张蓉, 等. 贵州麻江分布小弧斑姬蛙的分子鉴定[J]. 江苏农业科学, 2020, 48(12): 145-150.
- [8] KUMAR S, STECHER G, LI M, et al. MEGA X: molecular evolutionary genetics analysis across computing platforms[J]. Molecular biology and evolution, 2018, 35(6): 1547-1549.
- [9] RONQUIST F, TESLENKO M, VAN DER MARK P, et al. MrBayes 3. 2: efficient Bayesian phylogenetic inference and model choice across a large model space[J]. Systematic biology, 2012, 61(3): 539-542.
- [10] 熊荣川, 田应洲, 李松, 等. 泸县沼水蛙 16S rRNA 基因克隆与系统发育分析[J]. 六盘水师范学院学报, 2013, 25(5): 38-42.
- [11] CHEN L, MURPHY R W, LATHROP A, et al. Taxonomic chaos in Asian ranid frogs: an initial phylogenetic resolution[J]. The herpetological journal, 2005, 15(4): 231-243.
- [12] JIANG J, ZHOU K. Phylogenetic relationships among Chinese ranids inferred from sequence data set of 12S and 16S rDNA[J]. The herpetological journal, 2005, 15(1): 1-8.
- [13] CHE J, PANG J, ZHAO H, et al. Phylogeny of Raninae (Anura: Ranidae) inferred from mitochondrial and nuclear sequences[J]. Molecular phylogenetics and evolution, 2007, 43(1): 1-13.
- [14] FROST D R, GRANT T, FAIVOVICH J, et al. The amphibian tree of life[J]. Bulletin of the American Museum of Natural History, 2006(297): 1-291.
- [15] ZIEGLER T. Larval morphology in four species of *Hylarana* from Vietnam and Thailand with comments on the taxonomy of *H. nigrovittata* sensu lato (Anura: Ranidae)[J]. Zootaxa, 2009, 2051: 1-25.
- [16] CHEN X, CHEN Z, JIANG J, et al. Molecular phylogeny and diversification of the genus *Odorrana* (Amphibia, Anura, Ranidae) inferred from two mitochondrial genes[J]. Molecular phylogenetics and evolution, 2013, 69(3): 1196-1202.
- [17] GROSJEAN S, OHLER A, CHUAYNKERN Y, et al. Improving biodiversity assessment of anuran amphibians using DNA barcoding of tadpoles. Case studies from Southeast Asia[J]. Comptes rendus biologies, 2015, 338(5): 351-361.
- [18] GOUTTE S, DUBOIS A, HOWARD S D, et al. Environmental constraints and call evolution in torrent-dwelling frogs[J]. Evolution, 2016, 70(4): 811-826.
- [19] YUAN Z Y, ZHOU W W, CHEN X, et al. Spatiotemporal diversification of the true frogs (genus *Rana*): a historical framework for a widely studied group of model organisms[J]. Systematic biology, 2016, 65(5): 824-842.
- [20] BIJU S D, GARG S, MAHONY S, et al. DNA barcoding, phylogeny and systematics of golden-backed frogs (*Hylarana*, Ranidae) of the Western Ghats-Sri Lanka biodiversity hotspot, with the description of seven new species[J]. Contributions to zoology, 2014, 83(4): 269-284.
- [21] OLIVER L A, PRENDINI E, KRAUS F, et al. Systematics and biogeography of the *Hylarana* frog (Anura: Ranidae) radiation across tropical Australasia, Southeast Asia, and Africa[J]. Molecular phylogenetics and evolution, 2015, 90: 176-192.
- [22] BAREJ M F, SCHMITZ A, GÜNTHER R, et al. The first endemic West African vertebrate family: a new anuran family highlighting the uniqueness of the Upper Guinean biodiversity hotspot[J]. Frontiers in zoology, 2014, 11: 1-11.
- [23] MULCAHY D G, LEE J L, MILLER A H, et al. Filling the BINs of life: report of an amphibian and reptile survey of the Tanintharyi (Tenasserim) Region of Myanmar, with DNA barcode data[J]. Zookeys, 2018(757): 85.
- [24] WILKINSON L. ggplot2: elegant graphics for data analysis by WICKHAM, H[J]. Biometrics, 2011, 67: 678-679.
- [25] LEACHÉ A D, REEDER T W. Molecular systematics of the eastern fence lizard (*Sceloporus undulatus*): a comparison of parsimony, likelihood, and Bayesian approaches[J]. Systematic biology, 2002, 51(1): 44-68.
- [26] HUELSENBECK J P, HILLIS D M. Success of phylogenetic methods in the four-taxon case[J]. Systematic biology, 1993, 42(3): 247-264.
-
- 收稿日期: 2024-08-15; 修回日期: 2024-08-15
- 基金项目: 国家自然科学基金(31360512); 国家级大学生创新创业训练计划项目(201810977014); 贵州省省级一流专业建设点项目(GZSylzy202101, LPSSYylzy2003)。
- 作者简介: 王 巍(1996-), 男, 六盘水师范学院学生。
- ▲通讯作者: 熊荣川(1981-), 男, 副教授, 博士, 研究方向为动物遗传多样性。

龙里县地方级公益林动态变化分析

杜前程¹, 谢刚^{2▲}, 杜亚菲¹

(¹ 龙里县林业局, 贵州 都匀 558300; ² 贵州科学院 贵州省山地资源研究所, 贵州 贵阳 550001)

摘要: 根据龙里县 2020—2023 年间地方级公益林优化调整成果进行综合分析, 厘清了全县地方级公益林现状及动态变化情况。结果表明: (1) 2020 年—2023 年, 地方级公益林面积呈现先减少后增加再减少的趋势, 总面积增加了 1872.97 hm²; (2) 2020 年—2023 年, 地方级公益林起源为人工林的面积逐年增加, 起源为天然林的面积逐年递减, 其总量呈先上升后下降的趋势; (3) 地方级公益林保护等级主要为Ⅲ级, Ⅱ级、Ⅲ级林地 2020 年—2023 年均有分布, Ⅰ级林地仅 2022 年、2023 年有少量分布。

关键词: 地方级公益林, 动态变化, 龙里县

中图分类号: S757.2 文献标识码: A 文章编号: 1003-6563(2025)04-0049-04

Dynamic changes of local public welfare forests in Longli County

DU Qiancheng¹, XIE Gang^{2▲}, DU Yafei¹

(¹ Longli Forestry Bureau, Duyun 558300, China; ² Guizhou Institute of Mountain Resources, Guizhou Academy of Sciences, Guiyang 550001, China)

Abstract: Based on the optimization and adjustment results of local public welfare forests in Longli County from 2020 to 2023, the current situation and dynamic changes of local public welfare forests were analyzed. The results showed that from 2020 to 2023, the area of local public welfare forests showed a trend of first decreasing, then increasing, and then decreasing again, with a total area increase of 1872.97 hectares. From 2020 to 2023, the area of local public welfare forests originating from artificial forests increased year by year, while the area originating from natural forests decreased year by year. The total amount of local public welfare forests showed a trend of first increasing and then decreasing. The protection level of local public welfare forests was mainly Level III. Level II and III forests existed from 2020 to 2023, while Level I forests only existed in 2022 and 2023.

Keywords: local public welfare forest, dynamic changes, Longli County

公益林是指国家根据生态保护的需要, 将森林生态区位重要或者生态状况脆弱, 以发挥生态效益为主要目的划定的林地和林地上的森林^[1-3]。按事权等级划分为国家级公益林、地方级公益林^[4]。截至 2023 年, 龙里县公益林面积 45609.9 hm², 其中国家级公益林 16493.33 hm², 占 36.16%; 地方级公益林 29116.57 hm², 占 63.84%。经过贵州省公益林多年管理机制创新与实践探索, 地方级公益林已构建起空间布局日趋优化的生态屏障体系, 生态服务

功能逐步释放, 但仍然存在森林结构不完全合理、林分质量整体不高等问题^[5-7]。鉴于此, 定期监测地方公益林资源动态变化, 以期对地方级公益林质量精准提升与多功能协同发展和森林资源可持续利用提供科学依据^[8]。

1 研究区概述

龙里县位于黔中腹地, 黔南布依族苗族自治州

西北。地处东经 106°45′18″~107°15′1″,北纬 26°10′19″~26°49′33″之间。以丘陵、山地、盆地、河谷为主,土壤类型主要为黄壤。属亚热带湿润季风气候区,平均气温 14.8℃,年均降水量 1199.8 mm。植被类型丰富,主要以天然次生林为主,针叶树种主要有马尾松、杉木等,阔叶树种主要有梓木、楸树、桦木、樟科常绿树种,灌木树种主要有栎类、茅栗、蔷薇科灌木树种等为主。野生动物主要有蛇类、野山羊、野猪等,国家保护动物有猕猴、藏青猴、长尾雉、锦鸡、大鲵、穿山甲、石蛙等。森林覆盖率为 63.41%。

2 研究方法

依据 2020—2023 年地方级公益林优化成果数据,采用对比分析方法,对地方公益林地类、起源、保护等级数据变化进行分析比较,寻找动态变化规律。

3 结果与分析

3.1 地类面积变化情况

由表 1 可知,2020 年—2023 年地方级公益林面积呈现先减少后增加再减少的趋势。2021 年比 2020 年减少 905.21 hm²,下降 3.32%;2022 年比 2021 年增加 5110.76 hm²,上升 19.40%;2023 年比 2022 年减少 2332.58 hm²,下降 7.42%,但比 2020 年增加 1872.97 hm²,上升 6.87%。乔木林地面积逐年增加,竹林地、疏林地逐年减少,未成林造林地 2021 年增加后 2022 年减少,灌木林地 2020—2022 年呈减少趋势,2023 年急速增加;无立木林地 2021 年减少至 19.09 hm²后,2022 年、2023 年均无分布;宜林地、林业辅助生产用地仅 2020 年有分布,2021—2023 年均无分布。

表 1 地类面积动态统计表(hm²)

监测年度	合计	乔木林地	竹林地	疏林地	灌木林地	未成林造林地	无立木林地	宜林地	林业辅助生产用地	其他林地
2020	27243.60	15979.55	44.00	45.29	10660.48	67.06	122.57	124.41	200.25	
2021	26338.39	19298.98	35.56	43.51	6836.72	80.18	19.09			24.35
2022	31449.15	26017.74	26.42		5396.33	7.84				0.82
2023	29116.57	21775.66	22.79	0.07	7305.57	6.79				5.69

3.2 不同起源面积变化情况

由表 2 可知,地方级公益林起源主要以人工林为主,其总量呈先上升后下降趋势。2020 年—2022 年从 13209.75 hm² 逐年增至 18731.66 hm²,2023 年下降至 17361.86 hm²。从地类结构分析,2020 年,灌木林地天然林中的占比达 76.15%,之后逐年递减,截至 2023 年仅 3751.70 hm²,占本期天然林总量的 31.92%;人工林中,2020 年灌木林地占比仅为 2.38%,2020 年减少至 149.35 hm²后,2022 年、2023 年明显增加,截至 2023 年达到 3553.87 hm²,占本期人工林总量的 20.47%,增加了 18.09 个百分点。2020 年—2023 年,起源为人工和天然的乔木林地均总体呈先增后降趋势。由此可见,龙里县地方级公益林森林生态效益逐年向好。

表 2 按起源面积动态统计表(hm²)

起源	年度	合计	乔木林地	竹林地	疏林地	灌木林地	未成林造林地	无立木林地	宜林地	林业辅助生产用地	其他林地
天然	2020	13586.63	3235.98		4.13	10346.51					
	2021	12930.74	6237.89	1.53	3.94	6687.38					
	2022	12717.49	8511.90	4.95		4199.82					0.82
	2023	11754.72	7998.21	4.19		3751.70					0.61
	2020	13209.75	12743.57	44.00	41.15	313.96	67.06				
人工	2021	13364.21	13061.09	34.03	39.56	149.35	80.18				
	2022	18731.66	17505.84	21.48		1196.51	7.84				
	2023	17361.86	13777.45	18.60	0.07	3553.87	6.79				5.08
	2020	447.23						122.57	124.41	200.25	
无起源	2021	43.44						15.24	3.85		24.35
	2022										
	2023										

3.3 不同保护等级动态变化情况

由表 3 可知,地方级公益林保护等级主要为Ⅲ级,Ⅱ级、Ⅲ级林地 2020 年—2023 年均有分布,Ⅰ级林地仅 2022 年、2023 年有少量分布,原因为贵州龙架山国家森林公园范围增加的地方级公益林,其权属为贵州省国有龙里林场。从地类结构分析,Ⅰ级林地中仅有乔木林地和灌木林地,总量呈下降趋势;Ⅱ级林地中各类林地类型均有分布,总量呈先降低后上升再下降的趋势。Ⅲ级林地中各类林地类型均有分布,总量呈先上升后下降的趋势。

表 3 按保护等级动态变化情况统计表 (hm²)

保护等级	年度	合计	乔木林地	竹林地	疏林地	灌木林地	未成林造林地	无立木林地	宜林地	林业辅助生产用地	其他林地
Ⅰ级	2020										
	2021										
	2022	304.32	267.68			36.63					
	2023	299.77	264.71			35.06					
Ⅱ级	2020	4611.37	2748.50	10.08	0.76	1751.55	13.59	31.10	20.06	35.73	
	2021	503.72	381.16			120.85	0.43				1.27
	2022	859.21	435.48	0.41		422.60					0.72
	2023	654.44	366.30			287.63					0.51
Ⅲ级	2020	22632.24	13231.06	33.92	44.53	8908.93	53.47	91.47	104.34	164.52	
	2021	25834.67	18917.81	35.56	43.51	6715.87	79.75	19.09			23.08
	2022	30285.63	25314.57	26.02		4937.09	7.84				0.11
	2023	28162.37	21144.66	22.79	0.07	6982.88	6.79				5.18

3.4 优化调整情况及原因分析

由表 4 可知,2021—2023 年间,龙里县地方级公益林共调整了 3 次,总量呈先下降后上升趋势。2021 年总量减少 1859.23 hm²,2022 年总量增加 5017.13 hm²,2023 年总量减少 2324.76 hm²。其中,2022 年调出调入变化最大,由商品林调入 8661.68 hm²,调出公益林 3644.55 hm²。

表 4 优化面积变化情况 (hm²)

年 度	调 出	调 入	增加值
2021	2864.21	1004.98	-1859.23
2022	3644.55	8661.68	5017.13
2023	2452.04	127.28	-2324.76

由表 5 可知,2021 年,龙里县地方级公益林优化主要以政策性优化为主,非林地剔除面积占本期总调出面积的 59.00%,为本期公益林优化调出的主要类型;调入的地方级公益林主要为商品林转入,均以林权权利人意愿申请补进;碎斑处理主要为林草湿数据与第三次全国国土调查数据对接融合导致细小碎斑。

2022 年,地方级公益林变化较大,林权权利人意愿调出调入为本期公益林变化的主要类型。其中意愿调出类型占本期总调出面积的 86.85%,商品林转入占本期调入总面积的 95.71%,全部为林权权利人意愿调入。对比总量变化,2022 年总量增加 5017.13 公顷,其原因为地方级公益林资源数据库和兑现数据库严重不一致。根据贵州省林业局关于结合 2022 年林草湿生态综合监测工作要求和龙里

县公益林管理实际,同步开展了地方级公益林优化,对 2021 年地方级公益林优化成果与地方级公益林兑现数据库进行了整合,并充分征求林权权利人意愿调出未纳入兑现且不符合规划的图斑,调入符合规划且纳入兑现的图斑。

表 5 优化类型变化情况统计表 (hm²)

调整年度	调出地方公益林					调入地方公益林				碎斑处理
	合计	非林地剔除	征用审批	不符合区划标准	意愿调出	划转为国家级公益林	合计	商品林转入	新增林地补进	
2021	2864.21	1689.95	13.50	431.71	583.57	145.48	1004.98	978.98	26.00	703.58
2022	3644.55	193.59		285.49	3165.47		8661.68	8289.91	371.77	
2023	2452.04	113.94	62.90	2110.96	121.07	43.16	127.28	127.28		
合计	8960.8	1997.48	76.4	2828.16	3870.11	188.64	9793.94	9396.17	397.77	703.58

2023 年,结合贵州省地方级公益林落界核实工作,龙里县以 2022 年地方级公益林成果为底数,按照《贵州省地方级公益林落界核实工作方案》《贵州省地方级公益林落界核实技术方案》对龙里县地方级公益林进行了区划和落界,对原成果中非林地、因项目合法永久性使用林地、不符合区划标准和林权权利人申请调出的部分进行了调出处理,对符合国家公益林区划标准的地方级公益林转化为国家级公益林管理,对符合地方级公益林区划标准且征得林权权利人同意的商品林转入地方级公益林进行管理,最终形成了现有的地方级公益林成果。

4 讨论

通过分析 2021—2023 年 3 个年度的公益林优化调整情况,调入的地方级公益林全部为林权权利人意愿补进,调出的地方级公益林林权权利人意愿调出类型占 43.19%,说明龙里县地方级公益林变化受人为因素的影响较大。

《贵州省地方级公益林划定和管理办法》规定“在严格遵守国家有关规定、符合生态保护要求和不影响生态功能的前提下,经科学论证,可以合理利用地方级公益林林地资源和森林景观资源,适度发展林下经济、森林旅游等,发挥森林多种功能,增加林权权利人收益。”但在具体经营利用中,各地因没有具体可操作的实施方案为指导,并未全面主动推进,目前的公益林森林资源仍以保护为主。

(下转第 70 页)

金属矿山地下水主成分分析及其灌溉适宜性分析*

冯娟, 陈丞, 杨磊, 羊文, 胡德勇, 崔云祥

(贵州省地质矿产开发院 一〇五地质大队, 贵州 贵阳 550018)

摘要: 为揭示金属矿山地下水灌溉适宜性,在某金属矿山地下水的主量元素特征的基础上,通过钠吸附比法(SAR)、钠含量法(SC)、残余碳酸钠法(RSC)和灌溉系数法(K_a)等灌溉指标,综合评价其灌溉适宜性。结果表明,研究区浅层泉水阳离子以 Ca^{2+} 为主,阴离子以 HCO_3^- 为主;矿坑水受离子交替吸附作用控制,其溶解性离子含量高,TDS 含量较高。基于灌溉适宜性指标计算结果,研究区浅层泉水和浅层废弃矿坑水适宜灌溉,深层矿坑水不适宜直接灌溉,需处理达标后方可灌溉使用。本次研究为金属矿山地下水资源的合理利用提供了理论基础,有助于推动矿山水生态环境的修复治理和可持续发展。

关键词: 金属矿山,矿坑水,水化学特征,灌溉

中图分类号:X824,P66,P592 文献标识码:A 文章编号:1003-6563(2025)04-0052-04

Principal component analysis and irrigation suitability analysis of groundwater in metal mines*

FENG Juan, CHEN Cheng, YANG Lei, YANG Wen, HU Deyong, CUI Yunxiang

(The 105 Geological Team, Guizhou Institute of Geological and Mineral Resources and Development, Guiyang 550018, China)

Abstract: In order to reveal the irrigation suitability of groundwater in a metal mine in Guizhou Province, based on the characteristics of the main elements in the groundwater, the irrigation indexes including sodium adsorption ratio (SAR), sodium content (SC), residual sodium carbonate (RSC) and irrigation coefficient (K_a) were comprehensively evaluated. The results showed that Ca^{2+} and HCO_3^- were the main cations and anions in the shallow spring water. The pit water was controlled by ionic alternating adsorption, and its soluble ion content and TDS content were high. Based on the calculation results of irrigation suitability index, the shallow spring water and shallow abandoned pit water in the study area were suitable for irrigation, while the deep pit water was not suitable for direct irrigation. This study has provided a theoretical basis for the rational utilization of groundwater resources in metal mines, and is helpful to the restoration and sustainable development of water ecological environment in mines.

Keywords: metal mine, pit water, hydrochemical characteristics, irrigation

三都-丹寨的汞-金-锑-铅-锌多金属成矿带北起贵州省丹寨汞矿,南至贵州省三都县城北部拉峨一带,是贵州省重要的汞-金-锑-铅-锌多金属成矿带^[1-2]。目前,沿该成矿带已发现苗龙锑-金中型矿床、四相厂汞-金小型矿床、坝桥汞-金小型矿床等。随着矿山累年开采,遗留下众多因矿体开采殆尽而废弃的矿坑。这些矿坑以斜井为主,开挖方式以下

挖式为主,采空区受基岩裂隙水、风化裂隙水、大气降水等补给而积满地下水。研究区地表水系严格受气象要素控制,枯水季节地表河流和表层泉点常出现断流情况,为缓解灌溉用水紧张现状,当地村民常就近将废弃矿坑中积水抽出地表用于农田灌溉。生产矿坑水及废弃矿坑积水常具有高 SO_4^{2-} 、高 TDS、高 Cl^- 等特点,是否适宜灌溉,对当地土壤、水体及农作

物生长是否有不良影响尚无相关研究。本文通过分析研究区浅层泉水、生产矿坑水及废弃矿坑水中主量离子水化学特征,结合 SAR、SC、RSC 和 K_a 等灌溉指标,综合评价研究区代表性地下水的灌溉适宜性,为金属矿山地下水合理综合利用提供理论依据。

1 研究区概述

研究区位于三都县某矿区,占地约 4 km^2 (图 1)。研究区在区域上属中低山地貌,地表山高坡陡、植被茂盛,盛产水稻、烤烟;出露地层以三都组为主,岩性以泥灰岩为主;构造走向以北东向为主;地表发育苗龙河、交梨河等,均汇于都柳江。研究区主要产金、锑、汞等金属矿,约从 1980 年开始民间开采,后陆续规范开采,由于矿体采空或无矿等原因,矿坑陆续关闭或废弃。研究区矿坑周围植被茂盛,附近有当地村民自留地用于水稻种植。废弃后的矿坑受大气降水、基岩裂隙水等补给,逐渐充满水体,水位与当地潜水位持平,并受季节影响而波动。根据现场观察,水面未见明显富营养化现象。

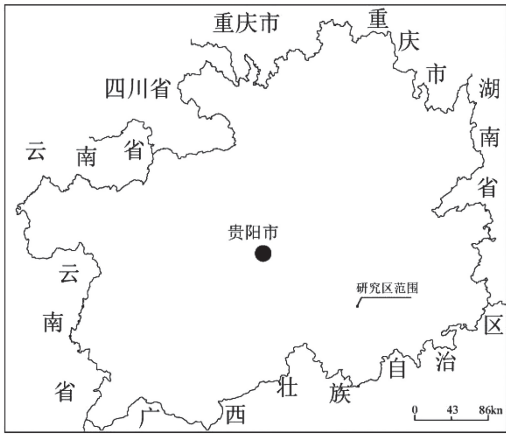


图 1 研究区位置分布图

2 样品采集与测试

为查明研究区代表性地下水质量,2022 年至 2024 年间,先后采集当地浅层泉水、生产矿坑水及废弃矿坑水共 3 组水样(图 2)。其中,S1 为浅层泉水,埋藏深度为 $4\sim 10\text{ m}$;S2 为生产矿坑水,埋藏深度约为 400 m ;S3 为废弃矿坑水,埋藏深度约为 70 m 。样品容器由蒸馏水清洗 3 次以上,取样前用样水涮洗 3 次以上,水样灌满容器后迅速封紧瓶口并

及时冷藏保存,于当天送至贵州省地矿局分析测试中心进行 Na^+ 、 K^+ 、 Ca^{2+} 、 Mg^{2+} 、 HCO_3^- 、 Cl^- 、 SO_4^{2-} 、 NO_3^- 及 pH、TDS 分析测试,测试结果可靠。



图 2 水样采集点分布示意图

3 评价方法

水体灌溉适宜性评价指标包括钠吸附比(SAR)、钠含量(SC)、残余碳酸钠(RSC)和灌溉系数(K_a)等。钠吸附比(SAR)是反映地下水中 Na^+ 与土壤组分发生交替吸附作用的相对活度,钠含量(SC)是利用 Na^+ 含量反映地下水中 Na^+ 交换土壤中 Ca^{2+} 、 Mg^{2+} 等溶解性阳离子的水平,残余碳酸钠(RSC)是通过 Eaton 公式计算碳酸盐和重碳酸盐与地下水中 Ca^{2+} 、 Mg^{2+} 的比值反映地下水中的残余碱度,灌溉系数(K_a)是指土层上某一水层全部蒸发后留下的盐类能使土壤积盐导致作物无法生长的水层厚度。各项指标从非常适宜到不适宜划分等级(表 1)。

表 1 水体灌溉评价指标等级

钠吸附比(SAR)	钠含量(SC)	残余碳酸钠(RSC)	灌溉系数(K_a)
非常适宜 <10	非常适宜 <20	非常适宜 <1.25	非常适宜 >18
较适宜 10~18	较适宜 20~40	适宜 1.25~2.5	适宜 6~18
适宜 18~26	适宜 40~60	不适宜 >2.5	不太适宜 1.2~6
不适宜 >26	不确定 60~80		不适宜 <1.2
	不适宜 >80		

4 测试结果与讨论

4.1 测试结果

测试结果见表 2。

表 2 水质分析测试结果

编号	pH	TDS	Na ⁺	K ⁺	Ca ²⁺	Mg ²⁺	HCO ₃ ⁻	Cl ⁻	SO ₄ ²⁻	NO ₃ ⁻
S1	7.96	265	3.37	0.59	83.4	9.29	262	2.04	19.1	2.69
S2	8.00	2909	816	13.3	108	43.9	322	113	1719	3.37
S3	8.30	1353	23.9	4.14	208	114	214	4.16	850	3.1

根据本次分析测试,分别从组分含量特征和水化学组分指示两方面分析如下:

(1) 组分含量特征

①pH 值、HCO₃⁻、NO₃⁻ 变化较小。pH 值均呈弱碱性,且较为稳定,范围为 7.96 ~ 8.30,平均值为 8.10,标准偏差为 0.13;HCO₃⁻ 含量为 214 ~ 322 mg/L,平均值为 266 mg/L,标准偏差为 54.11;NO₃⁻ 含量为 2.69 ~ 3.37 mg/L,平均值为 3.05 mg/L,标准偏差为 0.34。

②TDS、Na⁺、Ca²⁺、Mg²⁺、Cl⁻、SO₄²⁻ 含量变化大。泉水 S1 各项指标均较好,而矿坑水 S2 和 S3 矿坑水中 Na⁺ 含量为 23.9 ~ 816 mg/L,Cl⁻ 含量为 4.16 ~ 113 mg/L,TDS 为 1353 ~ 2909 mg/L,平均值为 2131 mg/L;SO₄²⁻ 为 850 ~ 1719 mg/L,平均值为 1284.5 mg/L;TDS、SO₄²⁻ 含量均已超过《地下水质量标准》(GB/T 14848—2017)中 IV 类水指标。

(2) 水化学组分的指示

①NO₃⁻ 的来源:研究区植被覆盖严重,农作物面积分布广泛,地下水水质可能受到农业活动的影响,肥料、动物粪便及土壤和农作物中含氮物质在大气降水、地表水的作用下沿植物根茎土壤裂隙、风化裂隙及构造裂隙等逐渐下渗迁移至地下水中。

②Na⁺、Cl⁻ 均为 S2 含量比 S3 高,而 Ca²⁺ 却是 S3 比 S2 高,这可能是因为 S2 的高 TDS 含量使 Ca²⁺ 易与 CO₃²⁻ 反应生成难溶的 CaCO₃ 沉淀,而溶解度大的 Na⁺ 仍留存于水体中^[5],从而使 S2 中 Na⁺ 含量远高于 S3,而 S2 中 Ca²⁺ 却低于 S3。

③图 3 中,S1 是浅层岩溶泉水,水化学类型显示补给区特征,阳离子以 Ca²⁺ 为主,阴离子以 HCO₃⁻ 为主;阳离子以 Ca²⁺ 为主,表现为大气降水淋滤特征。S2 是埋藏约 400 m 的矿坑水,阴离子中 SO₄²⁻ 占优势,阳离子中 Na⁺ 占优势,表明其径流过程中产生了阳离子交换或阴离子交换,Ca²⁺、Mg²⁺ 置换出大量的 Na⁺;同时汇集大量易溶于水的 SO₄²⁻,表现出排泄区地下水特征。S3 是埋藏约 70 m 的废弃矿坑水,雨季自流出矿坑,其阴离子以 SO₄²⁻、HCO₃⁻ 为主,

阳离子以 Ca²⁺ 和 Mg²⁺ 为主,表现出大气降水淋滤和阴离子、阳离子交替吸附作用,为地下水径流区特征;受径流路径长度控制,其离子交替吸附作用弱于 S2。

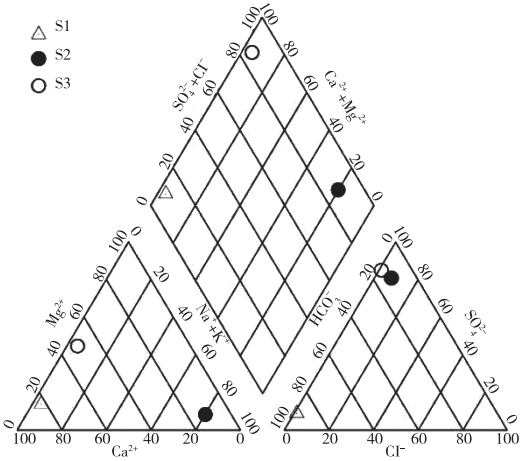


图 3 矿区地下水 Piper 三线图

4.2 水体灌溉适宜性评价

通过计算,灌溉适宜性评价指标 SAR、SC、RSC 和 K_a 的计算结果见表 3。

表 3 地下水灌溉评价指标计算结果统计表

编号	SAR	SC	RSC	K _a
S1	0.10	3.17	-0.65	747
S2	16.83	79.82	-3.78	1.6
S3	0.36	5.44	-16.3	180

根据表 3 绘制了研究区地下水灌溉适宜性雷达图,见图 4。各评价指标的计算结果分别投射到对应的坐标轴上,同一水点的相邻计算结果连成闭合的线。若水样点的 4 项指标计算结果形成的封闭平面处于适宜限值形成的封闭平面内部,则认为该采样点水体适宜灌溉。

从图 4 可以看出,研究区浅层泉水 S1、废弃矿坑水 S3 的各项指标均在适宜灌溉范围内,故可用于当地农业灌溉;而深层矿坑水 S2 由于 SC、K_a 指标超标,不适宜直接作灌溉用水,需要处理达标后方可灌溉使用。

5 结论与建议

研究区浅层泉水阳离子以 Ca²⁺ 为主,阴离子以

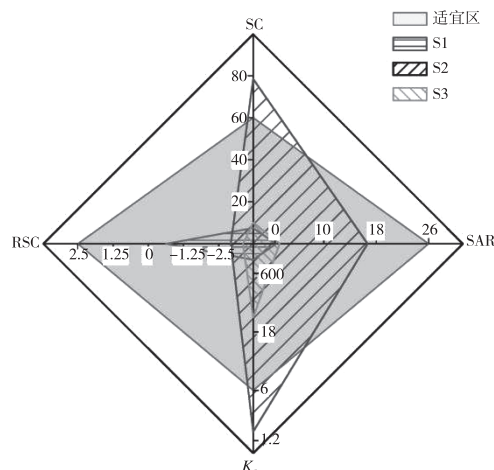


图4 水体灌溉适宜性雷达图

HCO_3^- 为主,表现为大气降水淋滤特征;矿坑水受离子交替吸附作用控制,其溶解性离子含量高,TDS 含量高。基于 SAR、SC、RSC 和 K_a 的计算结果,研究区浅层泉水和废弃矿坑水适宜灌溉,深层矿坑水不适宜直接灌溉,需处理达标后方可灌溉使用。本次研究为金属矿山地下水资源的合理利用提供了理论基础,有助于推动矿山水生态环境的修复治理和可持续发展。

需要注意的是,重金属矿山矿坑水一般存在 As、F 等毒性指标超标现象,其对灌溉适宜性是否有影响,仍需在今后工作中进一步开展 As、F 等毒性指标的分析测试及形态研究,探寻合适的灌溉适宜性评估方法,丰富金属矿山矿坑水资源合理利用的理论体系。

参考文献【REFERENCES】

[1] 谢卓君,夏勇,闫宝文,等. 贵州省三都-丹寨成矿带中卡林型金矿地球化学特征及成矿物质来源初探[J]. 矿物岩石地球化学通报,2014,33(4):326-333.

[2] 令狐东,姜经双. 贵州三都-丹寨地区金矿地质特征及找矿标志[J]. 西部探矿工程,2021(9):124-128.

[3] JANDU A, MALK A, DHULL S. Fluoride and nitrate in groundwater of rural habitations of semiarid region of northern Rajasthan, India: a hydrogeochemical, multivariate statistical, and human health risk assessment perspective[J]. Environmental geochemistry and health, 2021, 43: 3997-4026.

[4] 张志强,张强,刘超飞,等. 四川省简阳市地下水水化学特征及灌溉适宜性[J]. 水土保持通报,2018,38(4):67-74.

[5] 周云凯,姜加虎,黄群,等. 内蒙古岱海水质咸化过程分析[J]. 干旱区资源与环境,2008,22(12):51-55.

[6] 李泽岩,曹文庚,王卓然,等. 内蒙古河套灌区浅层地下水化学特征和灌溉适宜性分析[J]. 干旱区资源与环境,2022,36(2):418-426.

[7] 杨敏,卢耀如,张凤娥,等. 柳林泉域岩溶水化学演化及地球化学模拟[J]. 南水北调与水利科技,2018,16(1):127-134.

[8] 陶恺赞. 废弃矿坑水体主离子化学特征及其灌溉适宜性分析[J]. 环境监测管理和技术,2023,35(4):68-71.

[9] 石金芳,吴攀,张瑞雪,等. 煤矿排水影响下的水体水质特征及灌溉适宜性评价[J]. 节水灌溉,2016(11):71-76.

[10] 张雅,苏春利,马燕华,等. 水化学和环境同位素对济南东源饮用水源地地下水演化过程的指示[J]. 环境科学,2019,40(6):2667-2674.

收稿日期:2024-08-10;修回日期:2024-10-29

基金项目:国家自然科学基金资助项目(42373020);贵州矿区水文地质科技创新人才团队(黔地矿科合[2024]TD007)。

作者简介:冯娟(1986-),女,高级工程师,硕士,主要研究方向为矿山水工环地质、水文地球化学。

基于 ALOS DEM 的云贵高原山地地形差异特征研究^{*}

宋善海, 胡 锋, 古书鸿, 段 莹, 李慧璇

(贵州省生态与农业气象中心, 贵州 贵阳 550002)

摘 要: 地形特征是影响山地天气系统与大气环流过程的重要参数, 云贵高原山地在垂直与水平梯度上空间异质性显著。探究贵州高原与云南高原的山地地形特征和空间分异规律, 可为高原山地天气系统预报预测和机理研究提供科学参考。本文利用 ALOS 12.5 m 分辨率的 DEM 资料提取云南高原与贵州高原的地形参数, 在此基础上定量对比分析二者的异同。研究表明: (1) 贵州山峰数量为 46.49 万座, 平均山峰密度 75.32 座/单元, 云南山峰数量为 48.96 万座, 平均山峰密度为 33.99 座/单元, 贵州高原山峰密度大于云南高原; (2) 贵州高原主体海拔为 500~1500 m, 主要分布在第二、第三阶梯上; 平均坡度为 21.0°, 陡坡以上面积分布比重为 32.66%; 地形起伏度集中分布在 300~900 m 之间, 起伏大于 900 m 的面积比重不足 10%; (3) 云南高原主体海拔为 1000~2500 m, 整体分布在第三、第四、第五阶梯上; 平均坡度为 22.18°, 陡坡以上面积分布比重为 40.42%, 地形起伏度为 300~1500 m, 起伏大于 900 m 的面积比重高达 40.74%; (4) 在坡向上, 两省均表现为南、北、东南、西北坡分布多于其他坡向。

关键词: ALOS DEM, 高原山地, 地形因子, 差异特征

中图分类号: P931 文献标识码: A 文章编号: 1003-6563(2025)04-0056-07

Study on difference characteristics of mountain topography of Yunnan–Guizhou Plateau based on ALOS DEM^{*}

SONG Shanhai, HU Feng, GU Shuhong, DUAN Ying, LI Huixuan

(Guizhou Ecological Meteorology and Agrometeorology Center, Guiyang 550002, China)

Abstract: Topographic characteristics are important parameters influencing the mountain weather system and atmospheric circulation process. The mountains of Yunnan–Guizhou Plateau have significant spatial heterogeneity in vertical and horizontal gradients. Exploring the mountainous terrain characteristics and spatial differentiation patterns between the Guizhou Plateau and the Yunnan Plateau can provide scientific reference for the prediction and mechanism research of plateau mountain weather systems. This article uses ALOS 12.5 m DEM data to extract the topographic parameters of the Yunnan Plateau and the Guizhou Plateau, and quantitatively compares and analyzes the similarities and differences between the two. The research results show that: (1) The number of peaks in Guizhou is 464900, with an average peak density of 75.32 per unit; the number of peaks in Yunnan is 489600, with an average peak density of 33.99 per unit. The peak density of the Guizhou Plateau is higher than that of the Yunnan Plateau. (2) The altitude of the Guizhou Plateau is between 500 m and 1500 m, mainly distributed on the second and third steps; the average slope is 21.0°, and the proportion of area above steep slopes is 32.66%; the terrain undulation is concentrated between 300 m and 900 m, and the area with undulation greater than 900 m is less than 10%. (3) The altitude of the Yunnan Plateau is between 1000 m and 2500 m, mainly distributed on the third, fourth, and fifth steps; the average slope is 22.18°, and the proportion of area above steep slopes is 40.42%; the terrain undulation range from 300 m to 1500 m, and the area with undulation greater than 900 m is 40.74%. (4) In terms of slope ori-

entation, the proportion of south, north, southeast, and northwest slopes are more than other slope orientations in both provinces.

Keywords: ALOS DEM, plateau mountain, terrain factor, difference characteristics

0 引言

地形是影响山地天气系统变化的重要因子,宏观上可通过动力与热力作用改变局地大气环流的运动与发展^[1],如青藏高原、落基山脉、大巴山脉等对我国气候的影响巨大^[2];在微观上海拔、坡向、坡度、地形起伏等因子又影响着局地的风、温、水汽的再分配,形成复杂多样的小气候,加剧山地气候的时空分异^[3]。云贵高原是中国的四大高原之一,以其独特的喀斯特山地地貌与“山高、林密、谷深”的山地特征而闻名,但在云贵高原内部,又存在着明显的差异。云南高原地势北高南低,西部和北部是高山与高原,南部是低海拔的河谷与盆地,北部地区冬季寒冷干燥,夏季炎热多雨,南部地区则四季温暖湿润,降水充沛^[4];贵州高原地势西高东低,中部隆起,气候则相对较为温和湿润,四季分明,雨热同季^[5]。在云贵高原上还极易形成“准静止锋”这一种特殊的天气现象,其形成与云贵地区独特的地理位置、地形地貌也密切相关^[6]。因此,要深入探究云贵高原气候特征的异同,需以摸清云南高原与贵州高原的地形差异为前提。

国内外许多学者对地形和气象二者间的相互作用开展过大量的研究,如降水、气温、风速、闪电活动等等,由于研究区域不同,得到的结论也不尽一致^[7-12]。随着研究的不断深入,学者们开始从大尺度地形转入中小尺度地形,强调气象要素的时空分布不均匀与中小尺度地形的作用密切相关,低估中小尺度地形的影响会造成大气环流模式模拟严重误差^[13]。还有学者认为中小尺度气象要素的地理分布特征明显强于其他分布特征^[14]。云贵高原是典型喀斯特山地,小气候极为丰富,传统的地形特征获取手段耗时费力,获取周期长,且受人为因素影响较大。近年来遥感技术的发展迅速,DEM数据被广泛运用于地形地貌的特征提取,通过地理空间分析可以快速计算得到地形曲面参数,如坡度、坡向、地势起伏度及海拔高度等形态信息^[15-17]。随着AW3D30+数据的发布,DEM数据精度水平分辨率

由30 m提升至12.5 m,为精细的地标特征参数提取提供了新的数据来源^[18]。

本研究拟采用12.5 m高精度的数字高程模型对云贵高原进行数字地形分析,快速、准确地提取地形特征与地形因子,多维度定量分析云南高原与贵州高原山地地形特征及其差异,以期为探究云贵高原山地小气候、静止锋等形成机制提供数据支撑,同时对于天气预报、气候预测等提供参考。

1 研究区概况

云贵高原地处北纬22°~30°、东经97°~110°之间,位于中国地势第二级阶梯上,地势西高东低,平均海拔1497 m。境内地形复杂,山脉纵横,地形的起伏和山脉的走向也对气候分布产生影响,形成了多样化的气候区域,包括亚热带季风气候、温带大陆性气候和高山气候等,高原的东部和南部地区受夏季风的影响较大,夏季降水较多;而西部和北部地区受冬季风的影响较大,冬季较为干燥。高原北坡受寒流的滞流与极地大陆气团的影响,形成准静止锋,造成连绵阴雨;在南坡,主要受西南季风的影响,降水丰富。独特的山地环境与气候特征,把云贵高原孕育成中国生物多样性最为丰富的地区之一,其生态系统具备的水源涵养、土壤保持和气候调节等生态功能,对于保障区域生态安全和可持续发展至关重要。

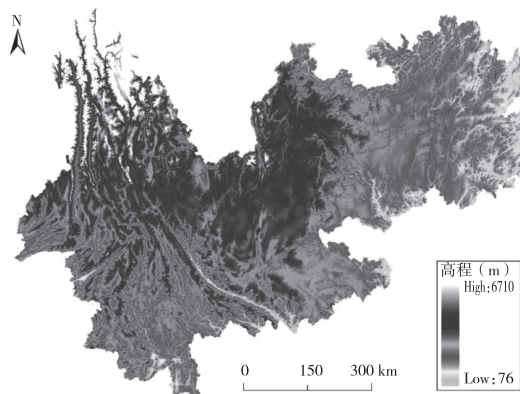


图1 云贵高原高程图

2 研究数据

2.1 DEM 数据

研究采用的 DEM 数据来源 ALOS (Advanced Land Observing Satellite) 卫星,该卫星于 2006 年 1 月发射,携带的相控阵型 L 波段合成孔径雷达 (PALSAR) 不受云层、天气和昼夜的影响,可全天候对地观测,获取高分辨率、扫描式合成孔径雷达、极化三种观测模式的数据。ALOS DEM 是由 PALSAR 传感器采集,其水平分辨率为 12.5 m,垂直精度为 2 m。数据类型为 .tif,下载地址为: <https://www.eorc.jaxa.jp/ALOS>。下载后的数据进行拼接和投影转换、图像裁剪等预处理步骤后可直接作为计算地形参数的数据源。

2.2 行政区划数据

贵州、云南的省界矢量数据均来源于中科院环境科学与数据中心 (<https://www.resdc.cn/>),格式为 .shp,通过注册审核后下载。

3 研究方法

3.1 山峰空间密度指数

一般地,山峰指的是地形中相对高度较高的部分,通常与周围地形有明显的落差。云贵地区山地地形地貌复杂,山峰数量多、分布广,在实际操作中,确定山峰的提取原则并开展大面积的提取并非易事,如何准确地提取云贵喀斯特地貌中的山峰分布是研究的重点和难点,为此,参考了国内外相关的研究和实践经验,并结合喀斯特山地地形的实际情况,制定了一套适用于云贵高原山峰提取的流程。

DEM 数据的预处理包括影像拼接、裁剪、转投影、重采样等步骤。在焦点运算环节中,计算单元大小的选择十分关键,研究聚焦喀斯特地貌两种主要的山地地貌:峰林和峰丛,峰林是指喀斯特地貌中分散林立的石灰岩山峰,山峰通常高大陡峭,形状各异,但底座直径较小;峰丛则是由多个峰林组成的群体,通过底座紧密相连,形成一片密集的山峰区域。通过高分辨率卫星影像选取 100 个峰林、峰丛山峰样本进行直径提取,并统计其底座平均直径,大小约

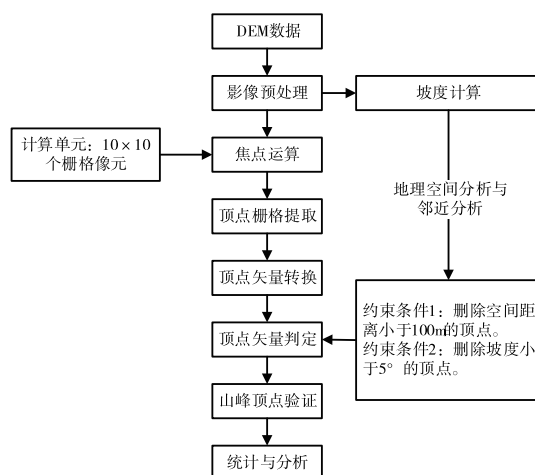


图 2 山峰提取技术路线图

为 280 m,考虑到焦点计算单元过大易出现小山峰被遗漏,单元过小则存在“一山多峰”的现实情况,为保证提取的山峰数量的准确性,以 10×10 个像元即 300 m×300 m 的单元大小进行 DEM 最大值的焦点运算。运算后得到顶点栅格,对顶点栅格进行地理栅格运算和矢量转换后即完成山峰顶点的初步提取。提取的初步结果还存在两个明显问题:一是两个邻近的计算单元重复提取问题,即存在“一峰两点”的问题,需要剔除;二是所有的像元都参加了焦点运算,存在平地也有峰值的情况,不符合客观实际,也需要剔除;故增加了两个约束条件对山峰点进行二次修正,约束条件一:删除空间距离小于 100 m (样本测量中发现的最小山峰距离)的顶点;约束条件二:删除坡度小于 5°(地理学上小于 5°为平坡)的顶点。剔除后即可完成云贵高原山峰的分布提取。

为深入探究山峰数量的分布特征,拟构建山峰密度指数对山峰在水平尺度上的分布进行评估。计算公式如下:

$$\rho = A/S \quad (1)$$

式中: ρ 为山峰密度指数, A 为统计单元内的山峰数量, S 为统计单元的面积大小,研究中 S 取值为 5×5 km² 的格网面积大小。

3.2 山地地形起伏

山地作为地形地貌的重要组成部分,其相对高差的大小和分布直接影响着整个地区的地形地貌特征。地形的起伏度可以反映出山地地形地貌的多样性和自然环境的复杂性,是地理学和地质学研究中极其重要的地形评价指标。研究中将山峰相对高差

定义为:5 km×5 km 网格单元内最大高程值与最小高程值之间的差值,差值越大,表示山地地形起伏度大,反之越小。

表 1 地形起伏度分级表

海拔提取	划分原则/m
第一级	$D < 300$
第二级	$300 < D \leq 600$
第三级	$600 < D \leq 900$
第四级	$900 < D \leq 1200$
第五级	$1200 < D \leq 1500$
第六级	$1500 < D \leq 1800$
第七级	$1800 < D \leq 2100$
第八级	$2100 < D \leq 2400$
第九级	$2400 > D$

3.3 海拔梯度分级

海拔梯度是指在山地地形中,自然环境要素、气候环境和生态系统等随着海拔的变化发生有规律变化的现象。云贵高原自西北向东南海拔逐渐降低,形成了明显的海拔梯度,也使得云贵高原的气候、植被和生态环境都呈现出多样化的特点。通过分析云贵高原的海拔梯度特征,可宏观地评估贵州、云南的地形特征。研究重分类工具对贵州与云南两省进行海拔梯度分级,分级标准如表 2 所示。

表 2 海拔梯度分级表

海拔提取	划分原则/m
第一级	$H < 500$
第二级	$500 \leq H < 1000$
第三级	$1000 \leq H < 1500$
第四级	$1500 \leq H < 2000$
第五级	$2000 \leq H < 2500$
第六级	$2500 \leq H < 3000$
第七级	$3000 \leq H < 3500$
第八级	$3500 \leq H < 4000$
第九级	$4000 \geq H$

3.4 坡度分布特征

坡度是地表单元陡缓的程度,计算坡度最为常用的方法即两点的高程差与其水平距离的百分比,其计算公式如下:

$$P = [(H_1 - H_2)/D] \times 100\% \quad (2)$$

式中: P 为像元 1 到像元 2 间的坡度, H_1 为像元 1 的

DEM 值, H_2 为像元 2 的 DEM 值, D 为像元 1 到像元 2 的水平距离大小。将研究区划分为平坡($<5^\circ$)、缓坡($5^\circ \sim 10^\circ$)、斜坡($10^\circ \sim 15^\circ$)、陡坡($15^\circ \sim 20^\circ$)、急坡($20^\circ \sim 25^\circ$)、险坡($>25^\circ$)6 个等级。

3.5 坡向分布特征

坡向指坡面法线在水平面上的投影的方向,即地形坡度的朝向。不同的坡向会导致降水量、日照时数和太阳辐射强度等生态要素存在较大的差异。研究将坡向划分为:无坡度、北坡($0^\circ \sim 22.5^\circ$ 、 $337.5^\circ \sim 360^\circ$)、东北坡($22.5^\circ \sim 67.5^\circ$)、东坡($67.5^\circ \sim 112.5^\circ$)、东南坡($112.5^\circ \sim 157.5^\circ$)、南坡($157.5^\circ \sim 202.5^\circ$)、西南坡($202.5^\circ \sim 247.5^\circ$)、西坡($247.5^\circ \sim 292.5^\circ$)、西北坡($292.5^\circ \sim 337.5^\circ$),共 9 个坡向。

4 研究结果

4.1 山峰数量结果及密度分布特征

研究共提取出云贵高原的山峰数量为 954512 座,其中贵州 464877 座,云南 489635 座。随机选择 200 个山峰顶点进行野外实地验证,选择 300 个顶点开展高分辨率影像比对验证,结果显示准确提取的数量为 468 个,提取的精度达 93.6%,结果可信度高。提取结果如图 3 所示。

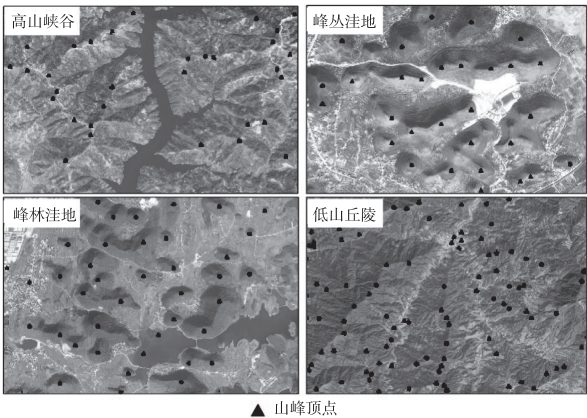


图 3 不同地貌下的地区提取效果图

以 $5 \times 5 \text{ km}^2$ 的网格大小为统计地理单元,计算云贵高原的山峰空间密度指数(图 4),结果表明:贵州省山峰空间密度指数平均值为 75.32 座/单元,最大值为 226 座/单元;云南平均值为 33.99 座/单元,最大值为 207 座/单元,平均密度指数贵州约为云南

的 2.22 倍。贵州山峰密度较大的区域分布在中部、南部和西南部,云南分布在东部与东南部。

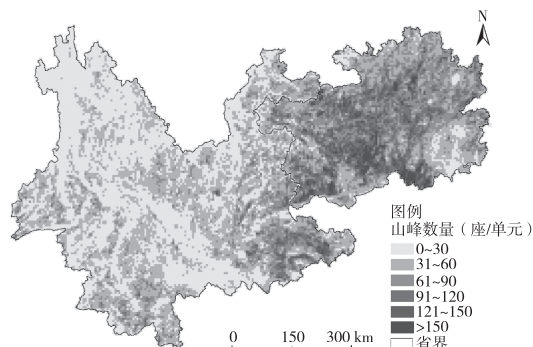


图 4 云贵高原山峰密度空间分布图

将密度大小划分为 6 个等级(图 5),统计不同等级中的地理单元数量情况。结果发现:随着密度等级的上升,贵州地理单元数量呈现出“先上升再下降”的变化特征,云南则呈现出“持续递减”的变化趋势。贵州地区超过 75.45% 的地理单元密度在 31~120 座/单元之间,云南 87.44% 的单元密度集中分布在 60 座/单元以下。密度等于 60 座/单元是一个转折点,小于 60 座/单元时,云南单元数量远远大于贵州,而当密度大于 60 座/单元时,贵州单元数量均大于云南。

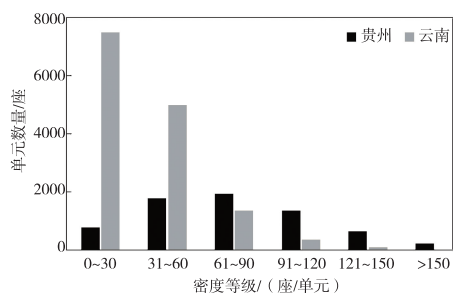


图 5 不同密度的山峰数量统计图

可见,贵州省的山峰总量虽小于云南省,但却在 $5 \times 5 \text{ km}^2$ 的格网单元内密度远大于云南,由此得出结论:在水平尺度上,贵州的山峰分布更加密集。

4.2 山地地形起伏特征

以 $5 \times 5 \text{ km}^2$ 的网格大小作为地理单元对贵州省与云南省进行地表起伏度运算(图 6),结果表明:贵州省的地表起伏度的最大值为 1634 m,平均值为 575.98 m,云南省的地表起伏度最大值为 3222 m,平均值 871.65 m。在空间分布上,贵州省的起伏度分布特征呈“四周大、中间小”的空间格局,云南省

的则呈现出“自东南、西南向中和西北逐渐递增”的趋势。

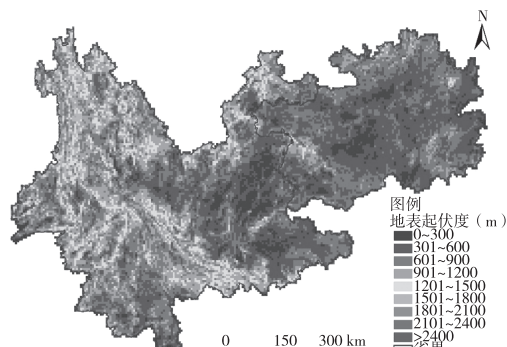


图 6 研究区地表起伏度空间分布图

为进一步探究起伏特征的分布状况,以 300 m 为步长将起伏度划分为 9 个等级,统计贵州与云南省在各起伏度等级的分布情况(图 7),结果发现:贵州有 49.78% 的地域,其地形起伏度位于 300 m 至 600 m 之间,其次是 600~900 m 区间段,约为 34.53%,起伏度大于 900 m 高差的不足 7.51%。云南在 300~600 m 之间仅有 23.58%,在 600~900 m 区间分布最广,约为 29.77%,但其起伏度大于 900 m 高差的高达 40.74%,约为贵州的 5.42 倍,立体特征更加突出。

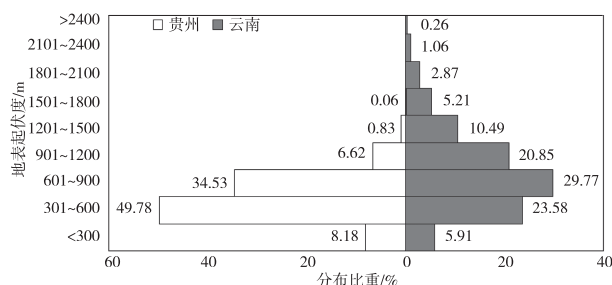


图 7 研究区地表起伏度的分布特征图

4.3 海拔梯度特征

将海拔梯度按照 500 m 为步长划分为 9 个等级(图 8),研究区地势整体呈现西北高、东南低的空间格局。贵州最高海拔 2901 m,最低海拔 146 m,平均海拔 1110.41 m,整体高差为 2755 m;云南省最高海拔为 6740 m,最低海拔为 76 m,平均海拔 1884.72 m,高差高达 6634 m,约为贵州的 2.4 倍。

统计两省在不同海拔梯度间分布的面积大小并绘制成折线图(图 9),结果发现:(1)随着海拔梯度的增加,贵州与云南均表现为面积分布先增大再减

小的倒“V”趋势,两头小、中间大的特征显著;(2) 云南省跨度更大、主体梯度更高。贵州地区共跨越了前五个梯度,以第二、第三梯度为主体,即海拔在 500~1500 m 之间;云南地区在 9 个梯度中皆有分布,以第三、第四、第五级为主体,主体海拔集中在 1000~2500 m 区间段,其中贵州分布面积最大的为第二梯度,云南分布面积最大的为第四梯度。

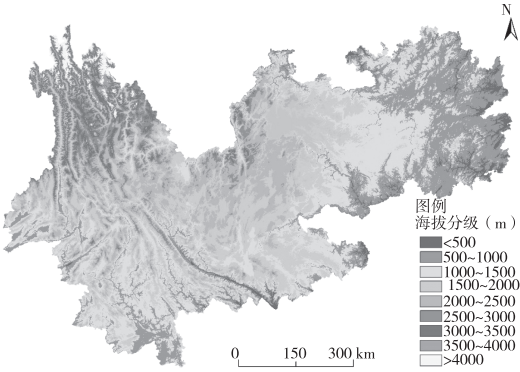


图 8 研究区海拔梯度分级图

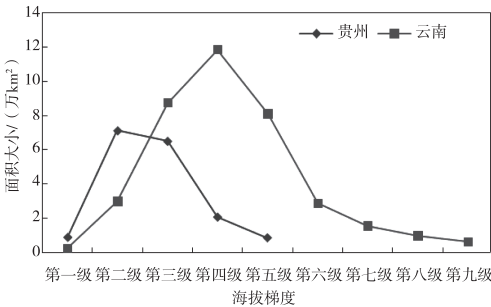


图 9 研究区不同海拔梯度的分布趋势图

4.4 坡度因子特征

计算研究区坡度结果(图 10)得出:贵州地区坡度平缓区域集中于黔中地带,呈现出“由中心向四周”坡度逐渐增大的空间格局;云南地势平缓区位于省的东部,中部、北部坡度较大。贵州省最大坡度为 83.30°,平均坡度为 21.0°,云南最大坡度为 84.05°,平均坡度为 22.18°,贵州的最大坡度、平均坡度均小于云南,表明云南的坡度特征更加显著。

由表 3 分析统计结果得出:(1)从分布比重上看,云南省在斜坡中的分布比重最大(30.76%),其次是陡坡(26.23%)和缓坡(21.31%);贵州省分布最大的也是斜坡,其次是缓坡(27.18%)和陡坡(22.07%),贵州陡坡及以上面积分布比重为 32.66%,云南比重为 40.42%,相较于贵州,云南

“坡更陡”的特点凸显;(2)从分布面积大小上看,云南在各坡度的分布面积均大于贵州,如在平坡上,约为贵州的 2.4 倍,“地更平”特征更加明显;(3)云贵两地均随着坡度的增加面积比重呈“先增大再减小”的变化规律,当坡度小于 15°时,面积比重随着坡度的增加而增大,当坡度大于 15°后,面积比重随坡度的增大而减小。

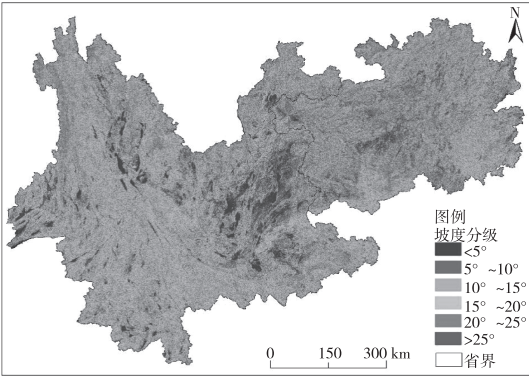


图 10 研究区坡度分布图

表 3 贵州与云南坡度分布对比统计

坡度分级	坡度/°	面积/km ²		面积比重/%	
		贵州省	云南省	贵州省	云南省
平坡	<5	11973.57	28436.09	6.88	7.49
缓坡	5~10	47281.46	80898.50	27.18	21.31
斜坡	10~15	54382.33	116752.67	31.27	30.76
陡坡	15~20	38394.20	99570.76	22.07	26.23
急坡	20~25	16873.90	44457.38	9.70	11.71
险坡	>25	5027.01	9423.20	2.89	2.48

4.5 坡向因子特征

基于 DEM 资料进行栅格空间运算提取坡向分布结果,并对各个方向的分布状况进行统计(图 11),发现两省坡向分布特征极为相似,表现为北坡、西北坡、南坡、东南坡四个方向的比重高于其他四个方向。这与境内山脉如横断山脉、哀牢山、大娄山、乌蒙山、苗岭等都大致为西北—东南走向的原因密不可分,进而影响着当地气候环境。如在贵州地区,北坡的多可对南下的冷空气形成有效阻挡,易于形成著名的“云贵准静止锋”天气系统,在云南,南坡多则会阻挡来自南印度洋的暖湿气流,加剧气温、降水的空间不均,形成了低纬气候、季风气候、山原气候等复杂多样的气候类型。

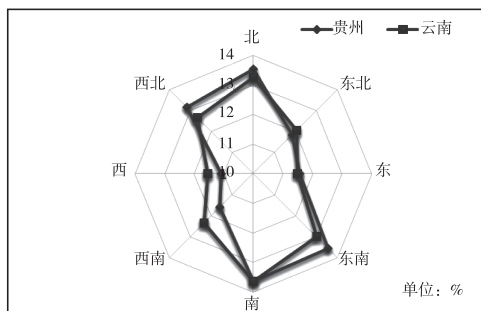


图 11 贵州省与云南省坡向分布统计图

5 结论

(1) 在水平特征上, 共提取贵州山峰数量 464877 座, 云南山峰数量为 489635 座, 云南的山峰数量略大于贵州; 通过计算山峰密度指数发现, 贵州平均山峰密度 75.32 座/单元, 云南平均山峰密度为 33.99 座/单元, 贵州高原山峰密度大于云南高原, 约为云南高原的 2.2 倍。

(2) 在垂直特征上, 贵州高原主体海拔为 500 ~ 1500 m, 云南主体海拔为 1000 ~ 2500 m, 明显高于贵州; 贵州高原地形起伏度集中分布为 300 ~ 600 m, 大于 900 m 的比重不足 10%, 而云南高原地形起伏度集中分布为 600 ~ 900 m, 大于 900 m 的比重高达 40.74%, 山地立体特征更加显著。

(3) 通过坡度的对比发现, 贵州省最大坡度为 83.30°, 平均坡度为 21.0°, 等级在陡坡以上面积分布比重为 32.66%, 平坡面积比重为 6.88%; 云南最大坡度为 84.05°, 平均坡度为 22.18°, 陡坡以上面积分布比重为 40.42%, 平坡面积比重为 7.94%, 整体上表明云南的坡度特征更加显著, 平地分布比重也大于贵州, “坡更陡, 地更平”的特征凸显。两省在坡向的分布上特征最为接近, 均表现为南、北、东南、西北坡分布多于其他坡向。

本研究完成了山峰数量、山峰密度、海拔梯度、地表起伏度、坡度、坡向等地形因子的提取, 并对云南与贵州的特征差异进行了详细分析, 但尚未与气候要素进行相关性的分析。上述不足将在未来的工作中继续探究。

参考文献【REFERENCES】

- [1] 廖菲, 洪延超, 郑国光. 地形对降水的影响研究概述[J]. 气象科技, 2007, 35(3): 309-316.
- [2] 温琴, 何国瑞, 杨海军. 青藏高原和落基山脉对 ENSO

影响的比较研究[J]. 大气科学, 2022, 46(5): 1209-1224.

[3] 黄寿波. 我国地形小气候研究概况与展望[J]. 地理研究, 1986(2): 90-101.

[4] 浦吉存, 黄中艳, 高敏. 云南气候特征与主要经济作物种植适宜性的关系[J]. 气象研究与应用, 2021, 42(1): 53-57.

[5] 吴俊铭, 童碧庆, 杨静. 论贵州喀斯特地区气候与生态环境治理的关系[J]. 贵州气象, 2003, 27(5): 25-28.

[6] 段旭, 段玮, 邢冬, 等. 冬春季昆明准静止锋与云贵高原地形的关系[J]. 高原气象, 2018, 37(1): 137-147.

[7] 何钰, 朱莉, 李国平, 等. 青藏高原东坡地形对影响云南降水的高原涡的作用机理[J]. 高原气象, 2024, 43(1): 42-58.

[8] 王莹, 苗峻峰, 苏涛. 海南岛地形对局地海风降水强度和分布影响的数值模拟[J]. 高原气象, 2018, 37(1): 207-222.

[9] 周梦甜, 李军, 何君, 等. 起伏地形对气温时空分布的影响——以重庆市为例[J]. 水土保持通报, 2016, 36(5): 346-351.

[10] 程东亚, 李旭东. 贵州乌江流域气温与降水空间分布特征及其地形影响分析[J]. 水土保持研究, 2020(2): 246-252.

[11] 范仲之, 付雅婷. 山西省闪电活动时空特征及其与地形的相关性分析[J]. 广东气象, 2017, 39(4): 69-72.

[12] 李京校. 基于 SAFIR 资料的北京及周边地区闪电特征分析[D]. 南京: 南京信息工程大学, 2011.

[13] 徐海明, 何金海, 谢尚平. 卫星资料揭示的中尺度地形对南海夏季气候的影响[C]//中国气象学会 2008 年年会复杂地形影响下的天气与气候分会场论文集, 2008.

[14] 叶芝林, 周买春. 广东省年降水量分布及大尺度地形对其影响[J]. 中山大学学报: 自然科学版, 2023, 62(4): 45-53.

[15] 董咪娜, 谢小平, 李冰, 等. 基于 DEM 的地形特征提取分析[J]. 山西师范大学学报(自然科学版), 2022, 36(2): 102-111.

[16] 刘宇杰, 武红旗, 李润. 基于不同水平分辨率 DEM 的昌吉回族自治州数字地形分析研究[J]. 农业与技术, 2022, 42(1): 48-51.

[17] 李伟, 王平, 丁智强, 等. 基于 ALOS DEM 的乌蒙山国家级自然保护区地貌特征研究[J]. 热带地理, 2023, 43(7): 1390-1399.

[18] 梁宏艳, 赵尚民, 马顶. 基于 ALOS DEM 的山西省西山矿区地貌形态类型提取[J]. 太原理工大学学报, 2023, 54(5): 950-958.

收稿日期: 2024-10-24; 修回日期: 2024-10-24

基金项目: 贵州省气象局省市联合科研基金项目(黔气科合 SS[2023]07 号); 贵州省气象局科研业务项目(黔气科登[2023]08-09 号)。

作者简介: 宋善海(1994-), 男, 工程师, 主要从事生态气象和卫星遥感应用工作。

石漠化山地刺梨园土壤理化性质分析*

刘妮, 李浪, 吴迪[▲]

(贵州科学院山地资源研究所, 贵州 贵阳 550002)

摘要: 为了探究不同石漠化程度下刺梨园土壤理化性质的差异, 分别测定分析了轻度、中度和重度石漠化山地刺梨园土壤物理性质及土壤养分含量情况。结果表明: 不同石漠化程度刺梨园土壤容重随着石漠化程度及土壤深度的增加而增加, 田间持水量及非毛管孔隙度随着石漠化程度及土壤深度的增加而降低, 且显著差异, 但土壤含水量和毛管孔隙度差异不显著; 不同石漠化程度刺梨园的土壤有机质、全氮、全磷、碱解氮存在显著差异, 且整体上呈现出相同的变化趋势, 各指标含量随着石漠化程度的增加而降低, 轻度石漠化山地刺梨园的土壤养分含量普遍高于中度和重度区域, 而不同石漠化程度刺梨园的全钾、速效钾、有效磷及 pH 值含量差异不显著。

关键词: 石漠化, 刺梨, 土壤物理性质, 土壤化学性质

中图分类号: S663.9 文献标识码: A 文章编号: 1003-6563(2025)04-0063-03

Soil physicochemical properties in *Rosa roxburghii* orchards in rocky desertification mountainous areas*

LIU Ni, LI Lang, WU Di[▲]

(Guizhou Institute of Mountain Resources, Guizhou Academy of Sciences, Guiyang 550001, China)

Abstract: In order to investigate the differences in soil physicochemical properties in *Rosa roxburghii* orchards with different degrees of rocky desertification, the physical properties and nutrient content of soil in *Rosa roxburghii* orchards with mild, moderate, and severe rocky desertification were measured and analyzed. The results showed that the soil bulk density increased with the increase of rocky desertification degree and soil depth. The field water holding capacity and non-capillary porosity decreased with the increase of rocky desertification degree and soil depth, and there were significant differences. The differences in soil moisture content and capillary porosity were not significant. There were significant differences in soil organic matter, total nitrogen, total phosphorus, and alkaline nitrogen among different levels of rocky desertification, and the overall trend was the same. The content of each indicator decreased with the increase of rocky desertification degree, and the soil nutrient content of the mild-rocky-desertification areas was generally higher than that in moderate- and severe-rocky-desertification areas. There was no significant difference in total potassium, available potassium, available phosphorus, and pH content among different levels of rocky desertification.

Keywords: rocky desertification, *Rosa roxburghii*, soil physical properties, soil chemical properties

刺梨(*Rosa roxburghii* Tratt)为蔷薇科蔷薇属多年生落叶小灌木,是我国特有的植物,以贵州为主产,云南、四川等地区也有分布,具有很高的营养价

值和药用价值,刺梨果实富含人体所需的多种矿质元素、氨基酸、蛋白质等,尤其是维生素 C 含量超高,享有“维 C 之王”的美称,刺梨的花、种子、果实、

叶子都可以入药,具有抗氧化、抗癌、提高免疫力等功效^[1-4]。近年来,刺梨产业在贵州发展迅速,在种植、加工、销售等方面取得了空前成效,然而,贵州是典型的喀斯特地貌地形区,是全国石漠化程度最深的省份,石漠化面积约占全省总面积的 20%,贵州许多刺梨基地都在石漠化山地上,土壤沙化严重导致土壤生成速率较低、土壤层浅薄,植被被破坏后造成大量的水土流失,土壤含水能力弱,这种先天条件不利的情况使得贵州刺梨的产量和品质完全不能满足加工企业的需求及市场的要求,严重制约贵州刺梨产业的发展^[5-6]。目前有关石漠化山地刺梨园的土壤理化分析还未有过系统研究及报道,因此本文拟通过对不同石漠化程度下刺梨园土壤物理性质及土壤养分含量情况进行分析,以期对石漠化山地刺梨园产业发展提供理论依据。

1 试验材料与方法

1.1 试验材料

试验样点分别为轻度石漠化、中度石漠化以及重度石漠化山地刺梨园区域,石漠化程度分级标准参考文献[7],在每个样点分别采用环刀采集土层厚度为 0~15 cm、15~30 cm 的土样,再各自取 3 个重复。

1.2 方法

1.2.1 土壤物理指标

参考土壤分析技术规范第二版^[8],分别测定和计算土壤容重、含水量、田间持水量、毛管孔隙度、非毛管孔隙度等物理指标。

1.2.2 土壤化学指标

有机质测定采用重铬酸钾容量法,pH 检测采用电位法,全氮测定采用自动定氮仪法,全磷采用钼锑抗比色法,全钾采用火焰光度法,碱解氮采用碱解扩散法,有效磷采用钼锑抗比色法测定,速效钾测定采用火焰光度法^[9]。

1.3 数据统计分析

采用 Excel 2019 软件进行数据处理,采用 SPSS 21.0 软件进行显著性分析。

2 结果与分析

2.1 石漠化程度对刺梨园土壤物理性质的影响

表 1 为不同石漠化程度的刺梨园土壤物理性质分析。土壤容重作为衡量土壤物理性质的重要指标,反映土壤压实程度,在很大程度上影响土壤透气性和持水能力,对作物根系的生长有显著影响^[10],由表 1 可知,不同石漠化程度的刺梨园土壤容重差异显著($P<0.05$),对于不同程度的石漠化山地刺梨园,其土壤容重均呈现出随石漠化程度及土壤深度的增加而增加的趋势;土壤含水量作为土壤的基础物理性质,直接影响植物的长势,对农作物的种植有重要影响^[11],由表 1 可知,不同石漠化程度的刺梨园土壤含水量差异不显著($P>0.05$);田间持水量是土壤中悬着毛管水达到最大量时的土壤含水量,是衡量灌水量的重要依据,是衡量土壤保水能力的一个重要指标,作为植物需水量的重要参数,常被视为植物有效水的上限^[12],从表 1 可知,不同石漠化程度的刺梨园土壤田间持水量均随着石漠化程度及土壤深度的加深而降低,差异显著($P<0.05$);土壤孔隙度的大小和数量对土壤中物质转移的形式及速率起决定作用,能衡量土壤的贮水性能和肥力水平^[13],从毛管孔隙度看,不同石漠化程度的刺梨园土壤毛管孔隙度整体差异不显著($P>0.05$),从非毛管孔隙度看,轻度石漠化山地刺梨园的非毛管孔隙度总体大于重度区域,差异显著($P<0.05$),随着石漠化程度及土壤深度的加深而降低。

表 1 石漠化山地刺梨园土壤物理性质

石漠化程度	样点	土壤容重 /(g/cm ³)	土壤含水量 /(g/kg)	田间持水量 /(g/kg)	毛管孔隙度 /%	非毛管孔隙度 /%
轻度	0~15cm	1.1167ab	235.0200a	263.5033ab	29.2060a	25.0542a
	15~30cm	1.2533ab	250.5900a	242.8433ab	30.4402a	18.9786ab
中度	0~15cm	1.0300b	292.7467a	311.2800a	31.6200a	23.3940a
	15~30cm	1.1533ab	254.6267a	277.5300ab	31.5769a	19.9089ab
重度	0~15cm	1.3133ab	234.6233a	245.7367ab	31.7326a	12.5755b
	15~30cm	1.3533a	227.8667a	215.2167b	28.3222a	18.2567ab

注:同列不同小写字母表示组间差异显著($P<0.05$)。

2.2 石漠化程度对刺梨园土壤化学性质的影响

表 2 为不同石漠化程度的刺梨园土壤化学性质分析。土壤的有机质是指土壤中所有含碳的物质,例如动物的尸体、植物的腐败躯干、微生物等,有机质的含量可以用来衡量土壤的肥力^[11],由表 2 可知,随着石漠化程度的增加土壤有机质的含量逐渐降低,差异显著($P<0.05$);土壤 pH 值对土壤养分的有效性有重要影响,土壤过酸或过碱都会不同程度地降低土壤养分的有效性^[14],由表 2 可知,不同石漠化程度的刺梨园土壤差异不显著($P>0.05$),均偏酸性;土壤的全养分含量是指全氮、全磷和全钾的含量,这些元素是植被生长所必需的营养元素^[11],由表 2 可以看出,不同石漠化程度刺梨园的土壤全氮、全磷、碱解氮差异显著($P<0.05$),轻度石漠化的山地刺梨园土壤全氮、全磷、碱解氮含量整体高于中度和重度石漠化山地刺梨园的含量,且整体上呈现出相同的趋势,各指标含量随着石漠化程度的增加而降低,全钾、速效钾及有效磷含量则差异不显著($P>0.05$)。

表 2 石漠化山地刺梨园土壤养分含量

石漠化程度	有机质 /(g/kg)	pH 值	全氮 /%	全磷 /(g/kg)	全钾 /(g/kg)	碱解氮 /(mg/kg)	有效磷 /(mg/kg)	速效钾 /(mg/kg)
轻度	107.7333a	4.0767a	0.3644a	0.6933a	4.2000a	422.5333a	25.3333a	283.3333a
中度	80.5000b	4.2000a	0.3057b	0.6867a	4.2333a	365.1000b	32.0333a	278.6667a
重度	86.0333b	4.0767a	0.2846c	0.4467b	4.1667a	343.4667b	22.1000a	242.6667a

注:同列不同小写字母表示组间差异显著($P<0.05$)。

3 结论与讨论

对比不同石漠化程度刺梨园土壤物理性质,发现土壤含水量和毛管孔隙度整体来说差异不大,土壤容重、田间持水量及非毛管孔隙度差异显著,其中土壤容重随着石漠化程度及土壤深度的增加而增加,田间持水量及非毛管孔隙度随着石漠化程度及土壤深度的增加而降低;对比不同石漠化程度刺梨园土壤化学性质,发现不同石漠化程度刺梨园的全钾、速效钾、有效磷含量及 pH 值差异不大,土壤有机质、全氮、全磷及碱解氮含量总体上呈现出相同的

趋势,指标含量随着石漠化程度的增加而降低,轻度石漠化山地刺梨园的指标含量普遍高于中度和重度区域。

参考文献【REFERENCES】

[1] 向仰州,喻阳华,刘英,等.刺梨果实品质与土壤养分的多元分析[J].贵州师范大学学报(自然科学版),2018(5):74-78.

[2] 杨方红,杨邦祝,魏怡冰,等.贵州刺梨产业发展概述[J].中国食品,2022(14):130-132.

[3] 敖芹,谷晓平,孟维亮.贵州刺梨研究进展[J].耕作与栽培,2010(6):1-3.

[4] 李素捷,方小宇,冯诚,等.贵州刺梨资源开发与种植技术[J].安徽农学通报,2023(C1):76-79.

[5] 马云,代稳,唐彬.贵州省石漠化现状及治理研究[J].科技资讯,2021(7):253-256.

[6] 程友忠.石漠化地区无籽刺梨栽培技术[J].现代农业科技,2015(5):116-117.

[7] 苏醒,冯梅,颜修琴,等.我国西南地区石漠化治理研究综述[J].贵州师范大学学报(社会科学版),2014(2):92-97.

[8] 杜森,高祥照.土壤分析技术规范[M].2版.北京:中国农业出版社,2006.

[9] 鲍士旦.土壤农化分析[M].北京:中国农业出版社,2000.

[10] 王磊,姬强,王亚麟,等.不同农艺措施对土壤理化性质的影响[J].安徽农业科学,2024(5):63-67.

[11] 普国民.凤庆县草原土壤理化性质分析[J].农业技术与装备,2022(11):90-91.

[12] 张艳,刘小源,李勋.高冰草对土壤物理性质的影响研究[J].现代农业科技,2023(6):151-154.

[13] 伍海兵,李峰,梁晶.大连市城区绿地土壤质量特征研究[J].浙江农业科学,2021,62(12):2446-2450.

[14] 鲁铭颖,马宏,姚澜,等.栽培羊肚菌对土壤理化性质的影响[J].蔬菜,2024(5):51-57.

收稿日期:2024-09-14;修回日期:2024-09-18

基金项目:贵州省科技计划项目(黔科合支撑[2022]一般116);贵州科学院青年基金(黔科院J字[2023]21号)。

作者简介:刘妮(1987-),女,陕西咸阳人,硕士,助理研究员。研究方向:土壤肥力与作物生产研究。

▲通讯作者:吴迪(1986-),女,贵州贵阳人,硕士,副研究员。研究方向:土壤肥力与作物生产研究。

HPLC-MS/MS 法测定果蔬中宁南霉素和多抗霉素 B 残留

周人材, 张 洁[▲]

(贵州省检测技术研究应用中心, 贵州 贵阳 550014)

摘 要: 本试验建立了高效液相色谱-串联质谱仪(HPLC-MS/MS)法测定果蔬中宁南霉素和多抗霉素 B 的快速检测方法。样品用 0.2% 甲酸水溶液提取, 用 C₁₈+PSA+GCB 净化。接着在 Agilent InfinityLab Poroshell 120 HILIC-Z 柱上使用梯度洗脱技术, 以甲醇(0.1% 甲酸)和 0.1% 甲酸水溶液作为流动相进行分离。然后用果蔬基质匹配标准曲线外标法扫描样品, 在正离子模式下通过多反应监测电喷雾进行定量。结果表明: 在 0.002~0.2 μg·mL⁻¹ 范围内, 宁南霉素和多抗霉素 B 在不同果蔬基质中线性关系良好, 相关系数(R^2)均大于 0.995; 在 0.02 mg·kg⁻¹、0.1 mg·kg⁻¹、2.0 mg·kg⁻¹ 的 3 个添加水平下, 宁南霉素平均回收率为 86%~104%, 相对标准偏差(RSD)为 1.8%~5.9%; 多抗霉素 B 平均回收率为 75%~93%, RSD 为 2.6%~6.3%。本方法操作简便、快速、准确, 可应用于果蔬中宁南霉素和多抗霉素 B 的同时检测。

关键词: HPLC-MS/MS, 果蔬, 宁南霉素, 多抗霉素 B

中图分类号: TS207.3 文献标识码: A 文章编号: 1003-6563(2025)04-0066-05

Determination of ningnanmycin and polyoxin B residues in fruits and vegetables by HPLC-MS/MS

ZHOU Rencai, ZHANG Jie[▲]

(Guizhou Testing Technology Research and Application Center, Guiyang 550014, China)

Abstract: A rapid determination method for ningnanmycin and polyoxin B in fruits and vegetables by HPLC-MS/MS was developed. The samples underwent extraction with 0.2% formic acid solution, followed by purification with C₁₈+PSA+GCB. They were then separated on an Agilent InfinityLab Poroshell 120 HILIC-Z column by gradient elution with methanol(0.1% formic acid) and 0.1% formic acid solution as the mobile phase. The samples were scanned by the fruit and vegetable matrix-matched standard curve external standard method for quantification under positive ion mode of multi-reaction monitoring electrospray. The findings demonstrated that ningnanmycin and polyoxin B had good linear relationship in various fruit and vegetable matrix within the range of 0.002 μg·mL⁻¹ to 0.2 μg·mL⁻¹ ($R^2>0.995$). Under three spiking levels(0.02 mg·kg⁻¹, 0.1 mg·kg⁻¹, and 2.0 mg·kg⁻¹), the average recovery of ningnanmycin was between 86% and 104%, with RSDs between 1.8% and 5.9%, and the average recovery of polyoxin B was between 75% and 93%, with RSDs between 2.6% and 6.3%. The method is simple, fast and precise, suitable for the simultaneous detection of ningnanmycin and polyoxin B in fruits and vegetables.

Keywords: HPLC-MS/MS, fruits and vegetables, ningnanmycin, polyoxin B

宁南霉素(ningnanmycin)是中国科学院成都生物研究所研发的具有自主知识产权的胞嘧啶核苷肽

型广谱抗生素^[1],是一种高效、低毒、无“三致”和无蓄积的广谱杀菌剂^[2],可用于防治多种细菌和真菌病害。多抗霉素 B (polyoxin B) 又称多氧霉素,属低毒内吸性肽嘧啶核苷酸抗生素类杀菌剂^[3],具有较高的抗菌活性,干扰病菌细胞壁几丁质的生物合成,使菌体细胞壁不能进行生物合成,导致病菌死亡,是其作用机理,其主要用于防治苹果斑点落叶病,轮纹病,梨黑斑病,葡萄灰霉病,草莓、黄瓜、甜瓜的白粉病,霜霉病,人参黑斑病和烟草赤星病等多种作物病害^[4-6]。目前,我国已记录这 2 种农药应用于黄瓜、辣椒、马铃薯、苹果、番茄等多种农作物^[7]。

目前宁南霉素的检测方法相对来说不多,见报的有高效液相色谱-紫外检测器法^[8],高效液相色谱-串联质谱^[9-10]等;多抗霉素 B 国内外的检测方法主要有毛细管电泳-电致化学发光法^[11]、液相色谱法^[12]、超高效液相色谱-光电二极管阵列检测器^[13]、液相色谱-串联质谱法^[14-15]等。但未见报道同时测定水果蔬菜中的宁南霉素和多抗霉素 B 残留的方法,我国《食品安全国家标准 食品中农药残留最大限量》(GB 2763—2021)中对宁南霉素和多抗霉素 B 的限量值均为临时限量,且并未规定其检测方法^[16]。虽然宁南霉素和多抗霉素 B 为低毒、高效、广谱性杀菌剂,但随着其广泛在农业生产中的大量使用,由其引起的食品安全问题不容忽视,因此,研究其在水果蔬菜中残留量的检测方法具有重要意义。

1 试验部分

1.1 仪器与试剂材料

1290-6470 型高效液相色谱仪-串联质谱仪(美国安捷伦公司);LT2002 型电子天平(常熟天量仪器有限公司);HT165 型高速台式离心机(湖南湘仪离心机仪器有限公司);超声波清洗器(上海科导超声仪器有限公司);XW-80A 涡旋混合器(上海米青科实业有限公司)。

乙腈(HPLC 级,上海安谱实验科技股份有限公司);甲酸(HPLC 级,上海安谱实验科技股份有限公司);十八烷基硅烷键合硅胶(C_{18})、乙二胺-N-丙基硅烷化硅胶(PSA)、石墨化炭黑(GCB)(美国安捷伦公司);实验用水为超纯水,由 Milli-Q 超纯水机(美国 Millipore 公司)制备;0.22 μm PTFE 针式滤

膜(上海安谱实验科技股份有限公司)。

1.2 标准溶液的配制

首先,分别量取 0.50 mL 的宁南霉素标准溶液(浓度为 100 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$,天津阿尔塔科技有限公司)和多抗霉素 B 标准溶液(同样浓度),将其置于 5 mL 的容量瓶中。然后,使用含有 0.2% 甲酸的水溶液进行定容,并进行涡旋混匀,从而制备出质量浓度为 10.00 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的标准储备溶液,该溶液在 0~4 $^{\circ}\text{C}$ 下保存,保质期为 1 个月。接着,取适量标准储备溶液于 10 mL 容量瓶中,再次使用含 0.2% 甲酸的水溶液进行定容并涡旋混合,得到质量浓度为 1.00 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的混合标准中间溶液,此溶液同样在 0~4 $^{\circ}\text{C}$ 下保存,有效期为 1 个月。最后,将该混合标准中间液用基质空白样品提取液按不同浓度稀释,制备出系列质量浓度为 0.002 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 、0.005 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 、0.01 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 、0.02 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 、0.05 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 、0.10 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 、0.20 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的果蔬基质标准工作液,并于临用时现配制。

1.3 样品前处理

准确称取 10.00 g 的样品置于 50 mL 的具塞离心管中,加入 15 mL 的 0.2% 甲酸水溶液,并进行漩涡混合以提取样品,时间为 5 min。随后,在 4000 r/min 的离心条件下离心 5 min,取上清液 1.5 mL,加入含有 50 mg C_{18} 、50 mg PSA 和 25 mg GCB 净化剂的 2 mL 净化管中,涡旋混合 1 min。之后,在 12000 r/min 下离心 3 min,并通过 0.22 μm 的微孔滤膜将液体转移至进样瓶中,以供 HPLC-MS/MS 测定。

1.4 分析条件

1.4.1 色谱条件

色谱柱:Agilent Infinity Lab Poroshell 120 HILIC-Z(2.1 $\times$ 100 mm,1.9 μm ,美国安捷伦公司);流动相 A:0.1% 甲酸水溶液,流动相 B:0.1% 甲酸甲醇;流速:0.3 mL/min;柱温:40 $^{\circ}\text{C}$;进样体积:2.0 μL ;流动相梯度洗脱条件见表 1。

1.4.2 质谱条件

多反应监测电喷雾正离子(ESI^{+})模式扫描;毛细管电压:3.5 kV;雾化器压力:310 kPa;干燥气流速:10 L $\cdot$ min $^{-1}$;干燥气温度:320 $^{\circ}\text{C}$;鞘气流速:11

$\text{L} \cdot \text{min}^{-1}$; 鞘气温度: $350\text{ }^{\circ}\text{C}$; 喷嘴电压: 1000 V ; 宁南霉素、多抗霉素 B 的保留时间和多反应监测 (MRM) 条件见表 2。

表 1 流动相梯度洗脱条件

时间 /min	流速 /($\text{mL} \cdot \text{min}^{-1}$)	流动相/%	
		A	B
0	0.3	30	70
2	0.3	30	70
3	0.3	40	60
8	0.3	40	60
8.01	0.3	30	70
10	0.3	30	70

表 2 宁南霉素、多抗霉素 B 的保留时间和多反应监测 (MRM) 条件

化合物	保留时间 /min	母离子 /(m/z)	子离子 /(m/z)	驻留时间 /ms	碎裂电压 /V	碰撞能量 /eV
宁南霉素	7.48	444.2	315.1	125	110	16
			333.1 [*]	125	110	12
多抗霉素 B	6.42	508.2	366.2	125	110	20
			490.1 [*]	125	110	13

注: *定量离子。

2 结果与讨论

2.1 色谱条件优化

2.1.1 色谱柱选择

农药残留检测常用的液相色谱柱主要包括 C_8 、 C_{18} 、氨基柱等^[13], 由于宁南霉素和多抗霉素 B 等目标物质均具有强极性, 导致在普通反相色谱柱上难以有效保留这些成分, 因此, 本文选用 HILIC 类色谱柱进行分离, 以便提高分析的效率。对比 Agilent InfinityLab Poroshell 120 HILIC-Z ($2.1 \times 100\text{ mm}$, $1.9\text{ }\mu\text{m}$) 与 Agilent ZORBAX RRHD HILIC Plus ($2.1 \times 100\text{ mm}$, $1.8\text{ }\mu\text{m}$) 这两种不同的色谱柱在水果和蔬菜中分离宁南霉素及多抗霉素 B 的效果时, 结果表明, 使用 Poroshell 120 HILIC-Z 色谱柱的分离性能更为优越, 其峰形平滑且对称, 没有出现拖尾现象。而使用 ZORBAX RRHD HILIC Plus 色谱柱时, 峰形表现较差, 容易出现拖尾现象。因此, 最终选择 Poroshell 120 HILIC-Z 色谱柱进行梯度洗脱分离实验。宁南霉素和多抗霉素 B 总离子流色谱图见图 1。

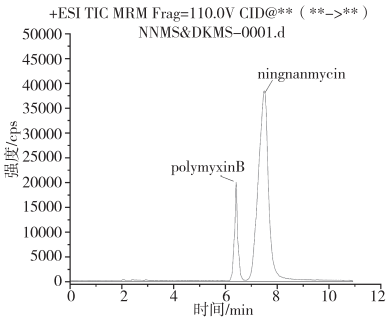


图 1 宁南霉素和多抗霉素 B 总离子流色谱图

2.1.2 流动相选择

对乙腈-水、甲醇-水、0.1% 甲酸乙腈-0.1% 甲酸水溶液和 0.1% 甲酸甲醇-0.1% 甲酸水溶液这 4 种不同的流动相进行比较, 旨在探讨它们对宁南霉素和多抗霉素 B 在梯度洗脱条件下的影响。研究表明, 在使用 0.1% 甲酸甲醇-0.1% 甲酸水溶液作为流动相时, 宁南霉素和多抗霉素 B 的响应值及色谱峰形均显著优于其他 3 种流动相组合。这一现象的出现, 部分是由于宁南霉素和多抗霉素 B 的化学结构以及乙腈的弱碱性所共同导致。在正模式离子化的条件下, 酸性环境更有利于加氢峰的形成。因此, 选用 0.1% 甲酸甲醇-0.1% 甲酸水溶液作为流动相是最为理想的选择。

2.2 前处理方法的优化

2.2.1 提取剂的选择

宁南霉素和多抗霉素 B 均为极性较强的化合物, 这些化合物在丙酮、乙酸乙酯等有机溶剂中的溶解度较低, 而在甲醇中的溶解度则为微量。此外, 它们在碱性环境中不稳定, 但在酸性和中性环境中则保持稳定。为此, 本研究选用 0.4%、0.3%、0.2%、0.1% 甲酸水及超纯水作为提取溶剂, 进行不同果蔬中宁南霉素和多抗霉素 B 的回收率试验。结果显示, 使用 0.2% 甲酸水作为提取溶剂时, 回收率显著高于其他溶剂, 因此本研究最终确定 0.2% 甲酸水为最佳提取溶剂。

2.2.2 净化方式的选择

为获得更佳的净化效果, 试验选择十八烷基硅烷键合硅胶 (C_{18})、乙二胺-N-丙基硅烷化硅胶 (PSA)、石墨化炭黑 (GCB) 3 种净化剂填料对果蔬空白基质中的宁南霉素和多抗霉素 B 的回收率进行比较试验, 结果表明: 除单独使用 PSA 时多抗霉

素 B 的回收率为 60% 左右,其他净化剂单独使用情况下宁南霉素和多抗霉素 B 的回收率均高于 70%。这可能是因为多抗霉素 B 为酸性,与氨基型吸附剂 (PSA) 发生结合而导致回收率降低;虽然 GCB 有较强的吸附性,但由于宁南霉素和多抗霉素 B 的强极性和分子结构的非平面性,GCB 对其几乎不吸附。为适应更多的样品基质的净化处理,本试验选择 50 mg C₁₈+50 mg PSA+25 mg GCB 作为净化处理剂。

2.3 线性关系、相关系数和检出限

由表 3 可知:宁南霉素和多抗霉素 B 在质量浓度 0.002 ~ 0.2 μg · mL⁻¹ 范围内,在不同基质中(草莓,苹果,黄瓜,辣椒)的线性关系良好,相关系数 (R^2) 均大于 0.995,以 3 倍信噪比得出在水果蔬菜中宁南霉素和多抗霉素 B 用本方法的仪器检出限为 0.02 mg · kg⁻¹。

表 3 宁南霉素、多抗霉素 B 在不同基质中的线性关系、相关系数 (R^2) 和检出限

化合物	基质	线性方程	相关系数 (R^2)	检出限 /(mg/kg)
宁南霉素	草莓	$Y=5633.51X+236.27$	0.9963	0.02
	苹果	$Y=2110.02X+355.12$	0.9985	
	黄瓜	$Y=1003.28X+59.45$	0.9991	
	辣椒	$Y=3637.54X+236.27$	0.9978	
多抗霉素 B	草莓	$Y=7631.87X+1536.33$	0.9958	0.02
	苹果	$Y=384.95X+706.21$	0.9993	
	黄瓜	$Y=133.07X+527.19$	0.9995	
	辣椒	$Y=2530.04X+2218.75$	0.9987	

2.4 方法回收率和精密度

在 4 种不同空白基质(草莓,苹果,黄瓜,辣椒)中添加不同质量浓度的标准溶液,每个添加水平做 6 个平行样品。由表 4 可知:宁南霉素的平均回收率为 86% ~ 104%,相对标准偏差 (RSD) 为 1.8% ~ 5.9%;多抗霉素 B 的平均回收率为 75% ~ 93%, RSD 为 2.6% ~ 6.3%。说明此方法满足农药残留分析的要求^[17]。

2.5 实际样品分析

随机选取市售的水果蔬菜,包括草莓、苹果、黄瓜、甜瓜、辣椒、马铃薯、番茄各 5 份,共 35 份样品,运用本试验方法对样品进行检测。结果显示,所测

样品均未检测出宁南霉素和多抗霉素 B。

表 4 宁南霉素、多抗霉素 B 在不同基质中的添加水平、平均回收率和 RSD

化合物	添加水平 /(mg · kg ⁻¹)	草莓		苹果		黄瓜		辣椒	
		Mean recovery /%	RSD /%	Mean recovery /%	RSD /%	Mean recovery /%	RSD /%	Mean recovery /%	RSD /%
宁南霉素	0.002	86	5.6	89	3.4	94	4.8	104	2.0
	0.1	88	5.1	90	2.5	97	1.8	99	1.8
	2	90	4.8	89	4.2	95	2.5	92	3.5
多抗霉素 B	0.002	76	6.3	82	4.0	78	3.2	80	3.9
	0.1	75	3.4	85	3.2	90	5.4	90	3.3
	2	78	5.8	83	5.7	87	6.1	84	4.1

3 结论

本试验采用 0.2% 甲酸水作为提取溶剂,通过使用 50 mg C₁₈、50 mg PSA 和 25 mg GCB 进行样品净化,结合 HPLC-MS/MS 技术,对水果和蔬菜中宁南霉素及多抗霉素 B 的残留进行同步检测。对色谱条件、样品前处理方法、标准曲线范围、仪器检出限、回收率及精密度等参数进行了优化和验证,并将该方法应用于市售实际样品的分析。结果表明,该方法操作简便、快速且具有较高的准确性,为检测水果和蔬菜中的宁南霉素及多抗霉素 B 的残留提供了有效的参考。然而,由于本试验所涉及的基质种类较为有限,因此,针对不同类型果蔬中宁南霉素和多抗霉素 B 残留的检测仍需进一步深入探究。

参考文献【REFERENCES】

[1] 向固西,胡厚芝,陈家任,等. 一种新的农用抗生素——宁南霉素[J]. 微生物学报,1995,35(5):368-374.
[2] 林祖纶,王大杰,胡厚芝,等. 应用反向离子对色谱研究农用抗生素 16A-6 在各类农作物中的残留[J]. 成都大学学报(自然科学版),1988(2):47-51.
[3] SUZUKI S,ISONO K,NAGATSU J,et al. Anew antibiotic polyoxin A[J]. Journal of antibiotics,1965,18:131.
[4] REUVENI M,COHEN H,ZAHAVI T,et al. Polar-apotent polyoxin B compound for controlling powdery mildews in apple and nectarine trees, and grapevines [J]. Crop prot, 2000 (19):393-399.
[5] 毕扬,张艳杰,郭巍,等. 防治西葫芦和黄瓜白粉病的生物制剂的筛选[J]. 植物保护,2016,42(5):234-237.
[6] 李宝燕,王培松,王英姿. 葡萄霜霉病的生物药剂防治

[J]. 农药, 2014, 53(11): 853-858.

[7] 中华人民共和国农业农村部农药检定所. 有效成分查询作物 [DB/OL]. [2023-03-04]. <http://www.chinapesticide.org.cn/zwb/dataCenter>.

[8] WANG T, YIN S, HU J. Dissipation and residue determination of ningnanmycin in cucumber and soil by high performance liquid chromatography with ultraviolet detector[J]. Bulletin of environmental contamination and toxicology, 2013, 90(2): 256-259.

[9] 张艳, 陈子雷, 李慧冬, 等. SPE-HPLC-MS/MS 测定梨中多抗霉素 B 和宁南霉素残留[J]. 农药, 2021, 60(6): 436-439.

[10] 宋雨桐, 陆洋, 尤庆航, 等. 高效液相色谱-串联质谱法检测宁南霉素在人参中的残留及消解规律[J]. 农药学报, 2021, 23(4): 747-753.

[11] 李玉杰, 周敏, 马永钧, 等. 毛细管电泳-电致化学发光法测定土壤中的多抗霉素 B[J]. 分析测试学报, 2011, 30(5): 537-542.

[12] 于福利, 宋喜峰, 姜军侠, 等. 多抗霉素 B 的高效液相色谱分析方法[J]. 农药, 2008, 47(3): 188-189.

[13] 常培培, 贺洪军, 张自坤, 等. 16% 多抗霉素 B 在西瓜和土壤中的残留及消解动态[J]. 果树学报, 2019, 36(3): 359-365.

[14] 陈莉, 靖俊杰, 贾春虹, 等. QuEChERS 结合超高效液相色谱-串联质谱法测定苹果中多抗霉素 B 残留与储藏稳定性[J]. 农药, 2020, 59(7): 512-515.

[15] 郭长英, 子雷, 丁蕊艳, 等. 多抗霉素 B 的 HPLC-MS/MS 分析方法[J]. 农药, 2020, 59(1): 34-36.

[16] 中华人民共和国国家卫生健康委员会. 食品安全国家标准 食品中农药残留最大限量: GB 2763—2021[S]. 北京: 中国标准出版社, 2021.

[17] 农业农村部种植业管理司. 农作物中农药残留试验准则: NY/T 788—2018[S]. 北京: 中国农业出版社, 2018.

收稿日期: 2024-08-12; 修回日期: 2024-08-19

作者简介: 周人材 (1984-), 男, 贵州印江人, 工程师, 研究方向为食品安全与农药残留分析。

▲通讯作者: 张 洁 (1988-), 女, 贵州贵阳人, 本科, 高级工程师, 研究方向: 食品分析与检测。

(上接第 51 页)

5 结论

(1) 2020 年—2023 年, 地方级公益林面积呈现先减少后增加再减少的趋势, 总面积增加了 1872.97 hm²。乔木林地面积逐年上升, 竹林地、疏林地逐年减少, 未成造林地先增加后下降, 灌木林地先减少后增加。

(2) 2020 年—2023 年, 地方级公益林起源为人工林的面积逐年增加, 起源为天然林的面积逐年递减, 其总量呈先上升后下降的趋势。

(3) 地方级公益林保护等级主要为Ⅲ级, Ⅱ级、Ⅲ级林地 2020 年—2023 年均有分布, Ⅰ级林地仅 2022 年、2023 年有少量分布。

参考文献【REFERENCES】

[1] 黄杨. 公益林森林资源与生态状况综合监测的重要性与应用[J]. 现代园林, 2012(2): 67-69.

[2] 张智. 南平市延平区樟湖镇生态公益林建设现状及对

策[J]. 农村经济与科技, 2024, 35(24): 72-74.

[3] 杨德勇. 生态公益林管护存在的问题及对策[J]. 农村科学实验, 2024(24): 123-125.

[4] 杨金远. 莆田市生态公益林结构布局优化对策[J]. 林草政策研究, 2023, 3(4): 43-48.

[5] 张震. 辽宁省生态公益林生态功能动态变化分析与评价[J]. 防护林科技, 2015(6): 120-122.

[6] 周世敏, 曾永美, 安娟艳, 等. 数据对接融合背景下地方级公益林落界调整对策研究——以贵州省黔南布依族苗族自治州为例[J]. 陕西林业科技, 2024, 52(4): 105-109.

[7] 李玢瑶, 张鑫. 地方集体生态公益林管护措施与建议[J]. 林业勘查设计, 2020, 49(3): 62-63.

[8] 董文宇. 辽宁省生态公益林资源动态变化调查研究[J]. 辽宁林业科技, 2020(4): 35-36.

收稿日期: 2025-03-04; 修回日期: 2025-03-04

作者简介: 杜前程 (1987-), 女, 本科, 工程师, 研究方向: 林学、森林资源管理。

▲通讯作者: 谢 刚 (1987-), 男, 硕士研究生, 高级工程师, 研究方向: 生态修复与林学。

3-氧代-2,6-二芳基-2,3-二氢哒嗪-4-甲酸乙酯衍生物的合成^{*}

邵书琼,王旭兰,程隆蝶,王江平,刘云龙,罗国勇[▲],郎天琼

(贵州中医药大学 药学院,贵州 贵阳 550025)

摘要: **目的:**优化3-氧代-2,6-二芳基-2,3-二氢哒嗪-4-甲酸乙酯衍生物的合成方法,并完成目标化合物的合成和结构表征。**方法:**以分子间的苯腙化结合分子内的内酰胺化反应为基础,从反应溶剂、催化剂种类、添加剂和投料比4个方面优化反应条件;以不同取代的2-(2-氧代-2-苯基亚乙基)丙二酸二乙酯和苯肼为原料,合成结构多样性的目标化合物;主要基于¹H NMR和¹³C NMR数据进行结构表征。**结果:**完成了3-氧代-2,6-二芳基-2,3-二氢哒嗪-4-甲酸乙酯衍生物合成方法的优化,并合成了10个衍生物,产率介于64.5%~82.3%之间。**结论:**所优化的3-氧代-2,6-二芳基-2,3-二氢哒嗪-4-甲酸乙酯衍生物的合成方法底物普适性较好,合成的10个衍生物均为新化合物,为进一步先导结构的发现奠定基础。

关键词: 2,3-二氢哒嗪-3-酮,优势骨架,合成方法优化,先导结构发现

中图分类号:R284.3 文献标识码:A 文章编号:1003-6563(2025)04-0071-05

Synthesis of ethyl 3-oxo-2,6-diphenyl-2,3-dihydropyridazine-4-carboxylate derivatives^{*}

TAI Shuqiong, WANG Xulan, CHENG Longdie, WANG Jiangping, LIU Yunlong, LUO Guoyong[▲], LANG Tianqiong

(School of Pharmacy, Guizhou University of Traditional Chinese Medicine, Guiyang 550025, China)

Abstract: In this study we optimized the synthetic method of ethyl 3-oxo-2,6-diaryl-2,3-dihydropyridazine-4-carboxylate derivatives, and completed the synthesis and structural characterization of the target compound. Based on the intermolecular phenylhydrazone reaction and the intramolecular amidation reaction, the reaction conditions were optimized from the aspects of solvents, catalysts, additives and material ratios. The target compounds with diversified structures were obtained by using diethyl 2-(2-oxo-2-phenylene) malonate with different substituents and phenylhydrazine as the raw materials. The structures were characterized based on ¹H NMR and ¹³C NMR data. The synthetic method of 3-oxo-2,6-diaryl-2,3-dihydropyridazine-4-carboxylate derivatives was optimized, and 10 derivatives were synthesized with yields between 64.5% and 82.3%. The optimized synthetic method displays broad substrate scope, and all 10 derivatives are new compounds, laying a foundation for further discovery of lead structures.

Keywords: 3-oxo-2,6-diphenyl-2,3-dihydropyridazine, privileged scaffolds, synthesis optimization, lead structure screening

据统计,FDA新近批准上市的36个新化学实体分子中,约50%含有芳香氮杂环片段^[1];超过

85%的活性分子结构中至少含有1个氮原子^[2-3]。因此,通常有“无氮不成药”的说法。这也进一步凸

显了含氮杂环在药物研发过程中举足轻重的地位。

3-氧代-2,3-二氢吡嗪(图1)具有相邻2个氮原子的六元骨架,是诸多活性分子中常见的结构片段,如具有抗组胺功效的 azelastine,具有抗炎作用的 emorfazone 和具有抗菌作用的 diclomezine(图1)等^[4]。围绕3-氧代-2,3-二氢吡嗪骨架开展活性先导结构的发现逐渐成为了研究热点^[5]。本研究以3-氧代-2,3-二氢吡嗪骨架为核心,在优化合成方法的基础上,合成了10个全新的3-氧代-2,6-二芳基-2,3-二氢吡嗪-4-甲酸乙酯衍生物,为后续活性先导结构的发现奠定基础。

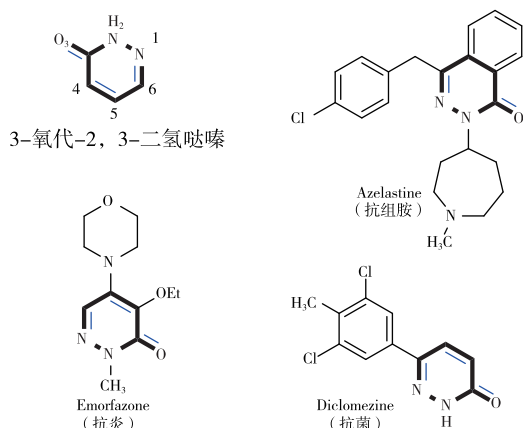


图1 具有3-氧代-2,3-二氢吡嗪骨架的活性分子

1 仪器与材料

1.1 仪器与材料

Bruker Ascend 400 核磁共振仪(TMS 为内标,德国布鲁克公司);ZF-7 暗箱三用紫外分光仪(上海嘉鹏科技有限公司);N-1300D 旋转蒸发仪(东京理化器械株式会社);集热式恒温加热磁力搅拌器(巩义市予华仪器有限责任公司);柱层析硅胶和 GF 254 薄层层析硅胶(青岛海洋化工有限公司);所有试剂均为分析纯,并经蒸馏处理后使用。

1.2 反应条件的优化

以2-(2-氧代-2-苯基亚乙基)丙二酸二乙酯(1a)和苯肼(2a)为模板分子(表1),对3-氧代-2,6-二芳基-2,3-二氢吡嗪-4-甲酸乙酯衍生物的合成方法进行优化。以核磁产率为评价指标,分别考察反应溶剂、催化剂种类、添加剂和投料比4个因素

的影响。如表1所示,在考察范围内,最适合的反应溶剂是乙腈;浓硫酸(1 eq)表现出最好的催化效果;1 eq 的无水硫酸钠有助于提升目标化合物 3a 的产率,这可能与去除反应过程中生成的水有关;当 2a 的投料为 1.5 eq 时,3a 产率最优,核磁收率达到了 79% (第9条)。

表1 反应条件的优化^a

序号	溶剂	催化剂	添加剂	核磁产率/%
1	EtOH	浓 H ₂ SO ₄	-	50
2	CH ₃ CN	浓 H ₂ SO ₄	-	57
3	EtOAc	浓 H ₂ SO ₄	-	21
4	THF	浓 H ₂ SO ₄	-	-
5	CH ₃ CN	浓 HCl	-	34
6	CH ₃ CN	CF ₃ COOH	-	-
7	CH ₃ CN	浓 H ₂ SO ₄	无水硫酸钠	71
8 ^b	CH ₃ CN	浓 H ₂ SO ₄	无水硫酸钠	67
9 ^c	CH ₃ CN	浓 H ₂ SO ₄	无水硫酸钠	79
10 ^d	CH ₃ CN	浓 H ₂ SO ₄	无水硫酸钠	75

^a 反应条件:1a(0.1 mmol),2a(1 eq),溶剂(1 mL),催化剂(1 eq),添加剂(1 eq),80℃搅拌反应6h;^b无水硫酸钠为2 eq;^c2a为1.5 eq;^d2a为2 eq。

1.3 目标化合物的合成

基于前期反应条件优化的结果,目标化合物的合成方法如下(图2):将1(10 mmol)、2(1.5 eq)和无水硫酸钠(1 eq)依次加入装有磁力搅拌子的50 mL 圆底烧瓶中,再加入10 mL 乙腈。完毕,搅拌条件下逐滴加入浓硫酸(1 eq),并置于80℃下加热搅拌6 h。采用TLC监测反应至1消耗完后,将反应液浓缩,以硅胶柱层析(石油醚:乙酸乙酯4:1)进行分离纯化,得目标化合物3。

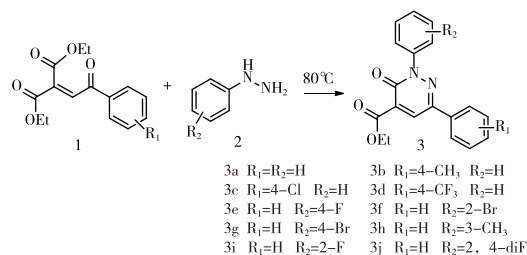


图2 化合物3a-3j的合成

2 结构表征

3-氧代-2,6-二苯基-2,3-二氢吡嗪-4-羧酸乙酯(3a)浅黄色固体;得率:72.1%; ^1H NMR(400 MHz, CDCl_3) δ 8.29(s, 1H), 7.85(dd, $J=7.8, 1.8$ Hz, 2H), 7.69(dd, $J=7.8, 1.9$ Hz, 2H), 7.56-7.35(m, 6H), 4.46(q, $J=7.1$ Hz, 2H), 1.42(t, $J=7.1$ Hz, 3H); ^{13}C NMR(101 MHz, CDCl_3) δ 163.9, 156.6, 144.2, 141.8, 134.1, 132.1, 131.8, 130.0, 129.2, 128.9, 128.6, 126.1, 125.8, 62.5, 14.3。3a的 ^1H -NMR共显示16个氢信号。其中 δ 8.29(s, 1H)为3-氧代-2,3-二氢吡嗪骨架上H-5的特征信号; δ 4.46(q, $J=7.1$ Hz, 2H), 1.42(t, $J=7.1$ Hz, 3H)为C-4位上羧酸乙酯的氢信号。根据 δ 7.85(dd, $J=7.8, 1.8$ Hz, 2H), 7.69(dd, $J=7.8, 1.9$ Hz, 2H), 7.56-7.35(m, 6H)可知,N-2和C-6位上的苯环均为单取代苯环。结合相应的碳谱信号,确定3a与图2中所示结构相符。

3-氧代-2-苯基-6-(4-甲基苯基)-2,3-二氢吡嗪-4-羧酸乙酯(3b)金黄色固体;得率:69.5%; ^1H NMR(400 MHz, CDCl_3) δ 8.27(s, 1H), 7.74(d, $J=8.3$ Hz, 2H), 7.68(dd, $J=8.5, 1.3$ Hz, 2H), 7.49(t, $J=7.7$ Hz, 2H), 7.41(t, $J=7.4$ Hz, 1H), 7.27(overlap, 2H), 4.45(q, $J=7.1$ Hz, 2H), 2.41(s, 3H), 1.42(t, $J=7.1$ Hz, 3H); ^{13}C NMR(101 MHz, CDCl_3) δ 164.0, 156.6, 144.2, 141.8, 140.2, 132.1, 131.8, 131.3, 129.9, 128.8, 128.6, 126.0, 125.8, 62.5, 21.5, 14.3。相对3a核磁信息而言,3b少了1个苯环氢信号,并新增一组取代在苯环上的甲基信号[δ_{H} 2.41(s, 3H); δ_{C} 21.5]。同时, ^1H -NMR谱信号[δ_{H} 7.74(d, $J=8.3$ Hz, 2H), 7.27(overlap, 2H)]表明C-6位为4-甲基苯基取代。综上,3b与图2中所示结构相符。

3-氧代-2-苯基-6-(4-氯苯基)-2,3-二氢吡嗪-4-羧酸乙酯(3c)金黄色固体;得率:75.1%; ^1H NMR(400 MHz, CDCl_3) δ 8.25(s, 1H), 7.79(d, $J=8.7$ Hz, 2H), 7.66(dd, $J=8.4, 1.3$ Hz, 2H), 7.50(t, $J=7.5$ Hz, 2H), 7.47-7.39(m, 3H), 4.46(q, $J=7.1$ Hz, 2H), 1.42(t, $J=7.1$ Hz, 3H); ^{13}C NMR(101 MHz, CDCl_3) δ 163.8, 156.4, 143.0, 141.6, 136.2, 132.6, 131.9, 131.7, 129.4, 128.9, 128.8, 127.4,

125.7, 62.6, 14.3。相对3a核磁信息而言,3c少了1个苯环氢信号。同时, ^1H -NMR谱信号[δ_{H} 7.79(d, $J=8.7$ Hz, 2H), 7.47-7.39(m, 3H)]表明C-6位为4-氯苯基取代。综上,3c与图2中所示结构相符。

3-氧代-2-苯基-6-(4-三氟甲基苯基)-2,3-二氢吡嗪-4-羧酸乙酯(3d)红褐色固体;得率:79.0%; ^1H NMR(400 MHz, CDCl_3) δ 8.31(s, 1H), 7.97(dd, $J=9.0, 0.8$ Hz, 2H), 7.73(dd, $J=8.3, 0.7$ Hz, 2H), 7.69-7.64(m, 2H), 7.55-7.48(m, 2H), 7.47-7.41(m, 1H), 4.47(q, $J=7.1$ Hz, 2H), 1.43(t, $J=7.1$ Hz, 3H); ^{13}C NMR(101 MHz, CDCl_3) δ 163.7, 156.4, 142.7, 141.5, 137.5(q, $J=1.2$ Hz), 131.99, 131.8(q, $J=32.7$ Hz), 131.8, 129.0, 128.9, 126.4, 126.2(q, $J=3.8$ Hz), 125.7, 124.0(q, $J=272.4$ Hz), 62.7, 14.3。对比3a的 ^1H -NMR谱可知,3d中缺少了一个氢信号; ^{13}C -NMR谱[δ_{C} 124.0(q, $J=272.4$ Hz)]表明三氟甲基的存在,进一步结合 ^1H -NMR谱信号[δ_{H} 7.97(dd, $J=9.0, 0.8$ Hz, 2H), 7.55-7.48(m, 2H)],表明3d中C-6位为4-三氟甲基苯基取代。综上,3d与图2中所示结构相符。

3-氧代-2-(4-氟苯基)-6-苯基-2,3-二氢吡嗪-4-羧酸乙酯(3e)浅黄色固体;得率:72.1%; ^1H NMR(400 MHz, CDCl_3) δ 8.29(s, 1H), 7.83(dd, $J=7.7, 2.1$ Hz, 2H), 7.68(dd, $J=9.0, 4.8$ Hz, 2H), 7.55-7.43(m, 3H), 7.17(t, $J=8.6$ Hz, 2H), 4.46(q, $J=7.1$ Hz, 2H), 1.42(t, $J=7.1$ Hz, 3H); ^{13}C NMR(101 MHz, CDCl_3) δ 163.6, 162.2(d, $J=248.6$ Hz), 156.4, 144.2, 137.6(d, $J=3.3$ Hz), 133.9, 132.1, 131.7, 129.99, 129.1, 127.5(d, $J=8.7$ Hz), 126.0, 115.6(d, $J=23.0$ Hz), 62.5, 14.2。与3a的 ^1H -NMR谱对比可知,3e中缺少了一个氢信号; ^{13}C -NMR谱[δ_{C} 162.2(d, $J=248.6$ Hz)]表明氟取代苯的存在,进一步结合 ^1H -NMR谱信号[δ_{H} 7.68(dd, $J=9.0, 4.8$ Hz, 2H), 7.55-7.43(m, 3H)]确定3e中N-2位为4-氟苯基取代,与图2中所示结构相符。

3-氧代-2-(2-溴苯基)-6-苯基-2,3-二氢吡嗪-4-羧酸乙酯(3f)浅黄色固体;得率:66.7%; ^1H NMR(400 MHz, CDCl_3) δ 8.37(s, 1H), 7.87-7.81(m, 2H), 7.78-7.72(m, 1H), 7.53-7.42(m, 5H),

7.35(ddd, $J=8.0, 6.0, 3.2$ Hz, 1H), 4.45(q, $J=7.1$ Hz, 2H), 1.42(t, $J=7.1$ Hz, 3H); ^{13}C NMR(101 MHz, CDCl_3) δ 163.7, 156.1, 144.6, 140.9, 134.0, 133.8, 133.3, 131.6, 130.8, 130.1, 129.2, 129.2, 128.5, 126.2, 121.4, 62.6, 14.3。与 3a 的 ^1H -NMR 谱对比可知, 3f 中缺少了一个氢信号 [δ_{H} 7.87-7.81(m, 2H), 7.78-7.72(m, 1H), 7.53-7.42(m, 5H), 7.35(ddd, $J=8.0, 6.0, 3.2$ Hz, 1H)], 结合使用的反应原料, 确定 3f 中 N-2 位为 2-溴苯基取代, 与图 2 中所示结构相符。

3-氧代-2-(4-溴苯基)-6-苯基-2,3-二氢吡嗪-4-羧酸乙酯(3g) 黄褐色固体; 得率: 82.3%; ^1H NMR(400 MHz, CDCl_3) δ 8.28(s, 1H), 7.92-7.79(m, 2H), 7.61(s, 4H), 7.53-7.40(m, 3H), 4.46(q, $J=7.1$ Hz, 2H), 1.42(t, $J=7.1$ Hz, 3H); ^{13}C NMR(101 MHz, CDCl_3) δ 163.7, 156.4, 144.5, 140.7, 133.9, 132.3, 132.0, 131.9, 130.2, 129.3, 127.3, 126.1, 122.4, 62.6, 14.3。与 3a 的 ^1H -NMR 谱对比可知, 3g 中缺少了一个氢信号 [δ_{H} 7.92-7.79(m, 2H), 7.61(s, 4H), 7.53-7.40(m, 3H)]。结合使用的反应原料, 确定 3g 中 N-2 位为 4-溴苯基取代, 与图 2 中所示结构相符。

3-氧代-2-(3-甲基苯基)-6-苯基-2,3-二氢吡嗪-4-羧酸乙酯(3h) 红褐色固体; 得率: 64.5%; ^1H NMR(400 MHz, Chloroform-d) δ 8.29(s, 1H), 7.95-7.67(m, 2H), 7.52-7.41(m, 5H), 7.38(t, $J=7.7$ Hz, 1H), 7.24(d, $J=7.5$ Hz, 1H), 4.46(q, $J=7.1$ Hz, 2H), 2.42(s, 3H), 1.42(t, $J=7.0$ Hz, 3H); ^{13}C NMR(101 MHz, CDCl_3) δ 163.9, 156.6, 144.1, 141.7, 138.9, 134.2, 132.1, 131.7, 129.9, 129.5, 129.2, 128.7, 126.4, 126.1, 122.9, 62.5, 21.5, 14.3。与 3a 的 ^1H -NMR 谱对比可知, 3h 中少了 1 个苯环氢信号, 并新增一组取代在苯环上的甲基信号 [δ_{H} 2.42(s, 3H); δ_{C} 21.5]。结合 ^1H -NMR 谱信号 [δ_{H} 7.52-7.41(m, 5H), 7.24(d, $J=7.5$ Hz, 1H)] 可知, 3h 中 N-2 位为 3-甲基苯基取代, 与图 2 中所示结构相符。

3-氧代-2-(2-氟苯基)-6-苯基-2,3-二氢吡嗪-4-羧酸乙酯(3i) 橘黄色固体; 得率: 71.65%; ^1H NMR(400 MHz, CDCl_3) δ 8.34(s, 1H), 7.82(dd, $J=7.6, 2.2$ Hz, 2H), 7.55-7.41(m, 5H), 7.35-7.21(m, 2H), 4.45(q, $J=7.1$ Hz, 2H), 1.42(t, $J=7.1$

Hz, 3H); ^{13}C NMR(101 MHz, CDCl_3) δ 163.7, 157.2(d, $J=253.7$ Hz), 156.1, 144.8, 133.9, 133.0, 131.4, 131.0(d, $J=8.0$ Hz), 130.1, 129.5(d, $J=12.5$ Hz), 129.2, 128.7, 126.2, 124.7(d, $J=3.9$ Hz), 116.8(d, $J=19.5$ Hz), 62.6, 14.3。与 3a 的 ^1H -NMR 谱对比可知, 3i 中缺少了一个氢信号; ^{13}C -NMR 谱信号 [δ_{C} 157.2(d, $J=253.7$ Hz), 131.0(d, $J=8.0$ Hz), 129.5(d, $J=12.5$ Hz), 124.7(d, $J=3.9$ Hz), 116.8(d, $J=19.5$ Hz)] 表明, 3i 中 N-2 位为 2-氟苯基取代, 与图 2 中所示结构相符。

3-氧代-2-(2,4-二氟苯基)-6-苯基-2,3-二氢吡嗪-4-羧酸乙酯(3j) 黄褐色固体; 得率: 71.65%; ^1H NMR(400 MHz, CDCl_3) δ 8.34(s, 1H), 7.84-7.78(m, 2H), 7.53-7.44(m, 4H), 7.07-6.96(m, 2H), 4.45(q, $J=7.1$ Hz, 2H), 1.42(t, $J=7.1$ Hz, 3H); ^{13}C NMR(101 MHz, CDCl_3) δ 163.5, 163.1(dd, $J=251.7, 11.2$ Hz), 157.5(dd, $J=256.3, 12.8$ Hz), 156.1, 145.0, 133.8, 133.1, 131.4, 130.2, 129.6(dd, $J=10.4, 1.9$ Hz), 129.2, 126.2, 125.9(dd, $J=12.7, 4.3$ Hz), 111.9(dd, $J=22.8, 3.8$ Hz), 105.2(dd, $J=26.5, 23.4$ Hz), 62.7, 14.3。与 3a 的 ^1H -NMR 谱对比可知, 3j 中缺少了两个氢信号; ^{13}C -NMR 谱信号 [δ_{C} 163.1(dd, $J=251.7, 11.2$ Hz), 157.5(dd, $J=256.3, 12.8$ Hz), 129.6(dd, $J=10.4, 1.9$ Hz), 125.9(dd, $J=12.7, 4.3$ Hz), 111.9(dd, $J=22.8, 3.8$ Hz), 105.2(dd, $J=26.5, 23.4$ Hz)] 表明, 3j 中 N-2 位为 2,4-二氟苯基取代, 与图 2 中所示结构相符。

3 讨论

基于优势骨架开展结构衍生, 是发现活性先导结构的有效策略^[6-7]。3-氧代-2,3-二氢吡嗪是具有六元含氮杂环的优势骨架, 表现出抗组胺、抗炎和抗菌等多样的药理作用^[4]。基于 3-氧代-2,3-二氢吡嗪优势骨架, 本研究旨在完成 3-氧代-2,6-二芳基-2,3-二氢吡嗪-4-甲酸乙酯衍生物的合成。首先, 基于分子间的苯胺化和内酰胺化的反应认知, 从反应溶剂、催化剂、添加剂和投料比对反应条件进行优化, 发现以非质子性溶剂乙腈为反应溶剂, 1 当量的浓硫酸作为酸性催化剂, 更有利于目标化合物的生成。同时, 1 当量无水硫酸钠作为添加剂可显著提升目标化合物的产率, 这可能与除去脲化反应

过程中生成的水有关。同时,还发现所建立的方法具有良好的底物适应性,N-2 和 C-6 位苯环上不论是吸电子取代基还是给电子取代基,均以中等到良好的收率(64.5% ~ 82.3%)得到目标化合物。总之,所构建的合成方法可较为高效的获得 3-氧代-2,6-二芳基-2,3-二氢吡嗪-4-甲酸乙酯衍生物,为进一步的活性评价奠定坚实基础。

然而,当前所得 3-氧代-2,6-二芳基-2,3-二氢吡嗪-4-甲酸乙酯衍生物的结构多样性存在不足,不利于先导结构的发现。提升目标化合物的结构多样性,是下一步工作的重点:如 3-氧代-2,3-二氢吡嗪骨架上 C-6 位苯环增加 3-氰基取代,以及 C-5 位的羧基酯转变为酰肼结构,均有利于提升该类化合物黄嘌呤氧化酶的抑制潜力,助力降尿酸先导结构的发现^[8];此外,C-2 位苯环替换成吡啶、噻唑等优势骨架片段,有利于提升该类化合物的成药性^[9-10]。

参考文献【REFERENCES】

- [1] DE LA TORRE B G, ALBERICIO F. The pharmaceutical industry in 2021. An analysis of FDA drug approvals from the perspective of molecules[J]. *Molecules*, 2022, 27(3):1075.
- [2] HERAVI MM, ZADSIRJAN V. Prescribed drugs containing nitrogen heterocycles: an overview[J]. *RSC advances*, 2020, 10:44247-44311.
- [3] LI PETRI G, HOLL R, SPANÒ V, et al. Editorial: emerging heterocycles as bioactive compounds[J]. *Frontiers in chemistry*, 2023, 11:1202192.
- [4] SERGEEV P G, KHRUSTALEV V N, NENAJDENKO V G. Synthesis of pyridazin-3(2H)-one derivatives by the reaction of CH-acids with dichlorodiazadienes[J]. *European journal of organic chemistry*, 2020(38):6085-6093.
- [5] RAGUSA G, GOMEZ-CAÑAS M, MORALES P, et al. New pyridazinone-4-carboxamides as new cannabinoid receptor type-2 inverse agonists: synthesis, pharmacological data and molecular docking[J]. *European journal of medicinal chemistry*, 2017, 127:398-412.
- [6] KUMAR R, SHARMA R, SHARMA D K. Pyrazole: a privileged scaffold of medicinal chemistry: a comprehensive review[J]. *Current topics in medicinal chemistry*, 2023, 23(22):2097-2115.
- [7] TANG Z, TAN Y, CHEN H. Benzoxazine: a privileged scaffold in medicinal chemistry[J]. *Current medicinal chemistry*, 2023, 30(4):372-389.
- [8] ZHANG L, WANG S, YANG M, et al. Design, synthesis and bioevaluation of 3-oxo-6-aryl-2,3-dihydropyridazine-4-carbohydrazide derivatives as novel xanthine oxidase inhibitors[J]. *Bioorganic & medicinal chemistry*, 2019, 27(9):1818-1823.
- [9] ALAM MA. Pyrazole: an emerging privileged scaffold in drug discovery[J]. *Future medicinal chemistry*, 2023, 15(21):2011-2023.
- [10] DHUGURU J, SKOUTAR. Role of indole scaffolds as pharmacophores in the development of anti-lung cancer agents[J]. *Molecules*, 2020, 25(7):1615.

收稿日期:2024-08-29;修回日期:2024-10-14

基金项目:国家级大学生创新创业项目(贵中医大创合字[2021]1号);贵州省教育厅科技拔尖人才项目(黔教技[2022]082号)。

作者简介:邵书琼(1998-),女,本科生,研究方向:药物合成。

▲通讯作者:罗国勇(1988-),男,教授,博士生导师,研究方向:活性先导结构的发现。

梁板式预应力锚栓风机基础承载力分析

刘建峰,唐嘉林,张广慧,李佳男

(深能北方能源控股有限公司,北京 100053)

摘要: 为了进一步分析梁板式预应力锚栓风机基础的受力特性,本文结合工程实际案例和相关规范,根据偏心荷载作用下风机基础的受力特性,对其在极端和正常运行荷载工况下的基础肋梁钢筋和裂缝宽度、上锚板下高强灌浆料局压承载力、高强灌浆料下混凝土局压承载力以及下锚板上混凝土局压承载力等进行了计算分析。结果表明:梁板式风机基础的计算方法和流程符合现行相关的国家规范,为风机基础结构的设计计算提供了参考。

关键词: 预应力锚栓,梁板式风机基础,受力特性

中图分类号:TU318 文献标识码:A 文章编号:1003-6563(2025)04-0076-06

Bearing capacity analysis of girder-slab prestress-anchor-bolt wind turbine foundation

LIU Jianfeng, TANG Jialin, ZHANG Guanghui, LI Jianan

(Shenneng Northern Energy Holdings Co. Ltd., Beijing 100053, China)

Abstract: In order to analyze the force characteristics of the girder-slab prestress-anchor-bolt wind turbine foundation, this paper combines the actual engineering cases and relevant standards, and calculates the foundation rib reinforcement and crack widths, the local compressive bearing capacity of the high-strength grout under the upper anchor plate, the local compressive bearing capacity of the concrete under the high-strength grout, and the local compressive bearing capacity of the concrete on the lower anchor plate under extreme and normal working conditions according to the force characteristics of the wind turbine foundation under eccentric loading. The results show that the calculation method and procedure are in accordance with the current national standards, which provides reference for the design and calculation of the wind turbine foundation structure.

Keywords: prestress anchor bolt, girder-slab wind turbine foundation, force characteristics

0 引言

环境问题和能源制约因素的存在使得更有必要发展可再生能源,而风能资源是最有前途的可再生能源之一。风力发电机塔筒属于高耸结构形式,风机基础上部承受的水平荷载和倾覆力矩较大^[1]。梁板式风机基础的变形主要由主梁的刚度抵抗,倾覆力矩则由地基和主梁之间填土的自重共同抵抗。

优点在于基础主体 C40 混凝土用量相对较小,与圆形扩展式风机基础相比可节省约 30% 的混凝土用量^[2];缺点在于基础钢筋量比扩展式风机基础钢筋量增大约 5%,且钢筋加工、钢模板制作以及安装更为复杂^[2-4]。近年来,梁板式风机基础的经济性优势逐渐受到业主和施工单位的青睐。

本文以某山地风电场梁板式预应力锚栓风机基础为例,主要依据《陆上风电场工程风电机组基础设计规范 NB/T 10311—2019》《建筑地基基础设计规范 GB 50007—2022》和《高耸结构设计标准 GB

5135—2019》等现行国家规范和标准。通过对在各种荷载工况作用下的梁板式预应力锚栓风机基础进行受力分析,简要探讨了风机基础肋梁配筋计算原理和局部受压承载力计算方法,为风机基础结构的设计计算提供了参考依据。

1 工程实例

1.1 工程概况

某山地风电场项目,拟安装 20 台单机容量为 5000 kW 风力发电机组,轮毂高度 115 m,叶轮直径 200 m,风机厂家提供的参考机型风机塔筒底部荷载标准值见表 1。

表 1 风机塔筒底部荷载标准值(不含安全系数)

工况	F_r /kN	F_v /kN	F_z /kN	M_x /(kN·m)	M_y /(kN·m)	M_z /(kN·m)
正常工况	752.2	0	5736.9	87440	0	1227.1
极端工况	908.2	0	5727	105215	0	1866.7

根据风机厂家提供的荷载资料,拟采用梁板式预应力锚栓风机基础,基础一次浇筑成型。基础底板半径 10.5 m,基础底板厚度为 0.50 m;上部台柱半径 3.30 m,中部圆台高度 2.6 m,上部圆台高度 0.8 m;基础埋深 4.30 m。风机基础示意图见图 1,上、下锚板分布图见图 2。锚栓张拉分两阶段进行,第一阶段,先将全部锚栓张拉紧固到 80% 的超张拉力,其张拉力值为 580.8 kN;第二阶段,机舱和风轮吊装完成后,对锚栓二次紧固,张拉到 100% 的超张拉力,其张拉力值为 726.0 kN。

风机基础主体强度等级 C40,基础钢筋强度等级 HRB400;灌浆料厚度 100 mm,二次灌浆料 $\phi 150$ mm $\times$ 300 mm 圆柱体轴心抗压强度标准值应大于等于 120 MPa,40 mm $\times$ 40 mm $\times$ 160 mm 棱柱体轴心抗压强度标准值应大于等于 130 MPa。

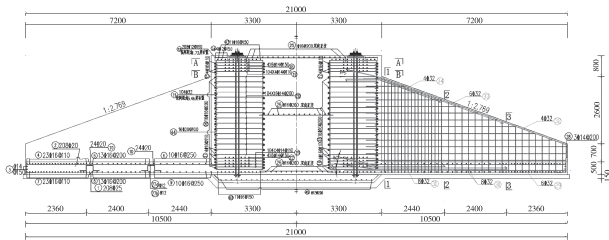


图 1 风机基础示意图

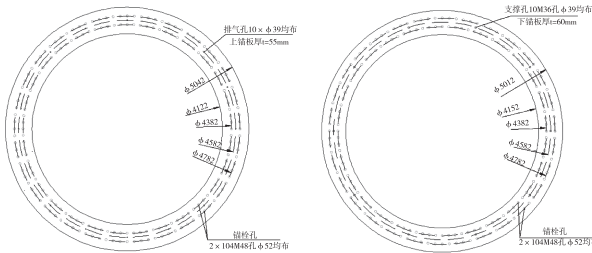


图 2 上、下锚板平面布置图

依据《陆上风电场工程风电机组基础设计规范 NB/T 10311—2019》^[5]和朱艳艳等^[6]基底净反力计算原理,可计算出风机基础在各荷载工况作用下的基底净反力值,计算结果见表 2。

表 2 基底净反力值

风机运行工况	荷载组合	基底净反力值/kPa
	标准组合	93.72
正常运行工况	基本组合(恒荷载对结构有利)	134.93
	基本组合(恒荷载对结构不利)	137.8
	标准组合	11.04
极端运行工况	基本组合(恒荷载对结构有利)	161.48
	基本组合(恒荷载对结构不利)	163.09

1.2 基础肋梁钢筋和裂缝宽度

1.2.1 基础肋梁钢筋计算

依据《陆上风电场工程风电机组基础设计规范 NB/T 10311—2019》5.3 节可知,风机基础的截面抗弯验算需考虑极端和正常运行荷载工况的基本组合值,主要由极端运行工况控制^[5],计算过程如下:

基础底面净反力: $P_j = 163.09$ kPa,形心位置: $x_j = 4.14$ m,计算面积: $A = 26.012$ m²

肋梁计算弯矩:

$$M = P_j \times A \times x_j = 163.091 \times 26.012 \times 4.14 = 17565.226 \text{ kN} \cdot \text{m}$$

非地震组合:

$$M = \gamma_0 M = 1.1 \times M = 19321748810.131 \text{ N} \cdot \text{mm}$$

相对界限受压区高度:

$$\xi_b = \frac{\beta_1}{1 + \frac{f_y}{E_s \varepsilon_{cu}}} = \frac{0.8}{1 + \frac{360.0}{200000.0 \times 0.003}} = 0.518$$

取受压区高度为界限受压区高度:

$$x = \xi_b h_0 = 0.518 \times 3710.0 = 1920.471 \text{ mm}$$

$$M_0 = \alpha_1 f_c b x \left(h_0 - \frac{x}{2} \right) = 1.0 \times 19.1 \times 800.0 \times$$

$$1920.471 \times \left(3710.0 - \frac{1920.471}{2} \right)$$

$$= 80691269461.038 \text{ N} \cdot \text{m}$$

$M_0 > M$, 压区钢筋 $A_{sp} = 0$, 由《混凝土结构设计规范》6.2.10-1 解二次方程得: $x = 358.124 \text{ mm}$

压区钢筋: $A_{sp} = 0.0 \text{ mm}^2$, 拉区钢筋: $A_s = (\alpha_c f_c b x / f_y + f_s / f_y) A_{sp} = 15200.358 \text{ mm}^2$

梁宽范围内的底板配筋面积: $A_{sb} = 3939.394 \text{ mm}^2$, 肋梁底部配筋值: $A_{sd} = 11260.964 \text{ mm}^2$

实配钢筋: 22 Φ 32, 实配钢筋面积: 17693.45 mm^2 , 配筋率 0.58%。钢筋面积大于计算配筋, 满足要求。

表 3 肋梁及基础底板配筋计算结果

配筋位置	计算内力 ($\text{kN} \cdot \text{m/m}$)	计算配筋 (mm^2)	实配钢筋	是否满足
肋梁底部第 1 段	2761.97	2676.162	6 Φ 32	满足
肋梁底部第 2 段	9480.583	8191.124	14 Φ 32	满足
肋梁底部第 3 段	17565.226	11260.964	22 Φ 32	满足
肋梁顶部第 1 段	1622.086	2523.333	4 Φ 32	满足
肋梁顶部第 2 段	6002.414	6416.008	10 Φ 32	满足
肋梁顶部第 3 段	12020.005	10049.866	14 Φ 32	满足

1.2.2 基础肋梁裂缝宽度计算

基础肋梁形心位置: $x_g = 4.14 \text{ m}$, 梁格计算面积: $A = 26.012 \text{ m}^2$

自重弯矩: $M_g = P_g \times A \times x_g = 83.057 \times 26.012 \times 4.14 = 8945.421 \text{ kN} \cdot \text{m}$

基础底面反力计算弯矩: $M_F = 20102.15 \text{ kPa}$, 肋梁计算弯矩: $M = M_F - M_g = 11156.727 \text{ kN} \cdot \text{m}$

肋梁宽度范围内的底板钢筋数量: 4

计算宽度的配筋: (22 Φ 32) + 4 Φ 25 + 4 Φ 25, 配筋面积: 21620.441 mm^2

根据《混凝土结构设计规范》7.1.4-3:

$$\sigma_s = \frac{M_q}{0.87 h_0 A_s} = \frac{11156.727 \times 10^6}{0.87 \times 3724.0 \times 21620.441} = 159.273 \text{ N/mm}^2$$

根据《混凝土结构设计规范》表 7.1.2-1:

$$\alpha_{cr} = 1.9$$

根据《混凝土结构设计规范》表 7.1.2-2:

$$V_i = 1.0$$

根据《混凝土结构设计规范》7.1.2-4:

$$\rho_{te} = \frac{A_s}{A_{te}} = \frac{21620.441}{1520000.0} = 0.014$$

根据《混凝土结构设计规范》7.1.2-2:

$$\psi = 1.1 - 0.65 \frac{f_{tk}}{\rho_{te} \sigma_s} = 1.1 - 0.65 \times \frac{2.39}{0.0142 \times 159.273} = 0.414$$

裂缝宽度:

$$\omega_{\max} = \alpha_{cr} \psi \frac{\sigma_s}{E_s} \left(1.9 c_s + 0.08 \frac{d_{eq}}{\rho_{te}} \right) = 1.9 \times 0.414 \times \frac{159.273}{200000.0} \times \left(1.9 \times 60.0 + 0.08 \times \frac{30.451}{0.014} \right) = 0.179 \text{ mm}$$

裂缝宽度满足要求。

表 4 基础肋梁裂缝宽度值

计算位置	裂缝宽度 (mm)	裂缝宽度限值 (mm)	是否满足
肋梁底部第 3 段	0.179	0.2	满足
肋梁底部第 2 段	0.189	0.2	满足
肋梁底部第 1 段	0.156	0.2	满足
肋梁顶部第 3 段	0.152	0.2	满足
肋梁顶部第 2 段	0.137	0.2	满足
肋梁顶部第 1 段	0.177	0.2	满足

1.3 风机基础局部受压承载验算

预应力锚栓连接是目前风机基础和上部塔筒常用的连接形式, 上、下锚板与二次高强灌浆料、主体混凝土接触面位置存在局部受压的特性。因此, 有必要对风机基础局部受压位置进行计算, 避免发生局部受压破坏^[7]。某山地风电场项目的高强灌浆参数如下:

灌浆厚度: 100.0 mm;

灌浆宽度: 660.0 mm;

灌浆宽度内外直径: D_1 : 3.922 m, D_2 : 5.242 m

1.3.1 上锚板下高强灌浆局压计算

外荷载作用于单元隔离体最大压力计算:

$$F = \frac{4M}{nD} + \frac{N}{n} = \frac{4 \times 131160.0}{208 \times 4.582} + \frac{7457.97}{208} = 586.337 \text{ kN}$$

式中: F —基本组合下, 极端荷载工况下单根预应力锚栓对应单元格受到的最大竖向力设计值(kN); M —基本组合下, 极端荷载工况下塔筒底部最大弯矩设计值(kN·m); N —基本组合下, 极端荷载工况下塔筒底部最大竖向力设计值(kN)。

上锚板净面积 A_f : 6.18 m²。

单根锚栓等效弹簧刚度:

$$C_s = \frac{E_s A_s}{L_s} = \frac{210000.0 \times 1470.0}{4745.0} = 65057.956 \text{ N/mm}$$

式中: E_s — 锚栓弹性模量 (MPa); A_s — 预应力锚栓螺纹公称应力截面积 (mm²); L_s — 锚栓夹持长度, 可取下锚板顶面至法兰顶面之间的距离 (mm)。

基础等效弹簧刚度:

$$C_d = \frac{\tan \alpha E_c c}{\ln \left(1.0 + \tan \alpha \frac{h}{w} \right)} = \frac{\tan 15^\circ \times 32500.0 \times 138.411}{\ln \left(1 + \tan 15^\circ \times \frac{4600.0}{460.0} \right)} = 925205.323 \text{ N/mm}$$

式中: α — 应力扩散角, 可取 15°; c — 对锚栓隔离体在环向方向所占的宽度 (mm); w — 基础混凝土顶面受压宽度, 取上锚板宽度 (mm); h — 基础混凝土参与刚度计算的高度, 取下锚板顶面至下锚板底面之间的距离 (mm)。

预应力锚栓分力系数:

$$p = \frac{c_s}{2c_s + c_d} = \frac{65057.956}{2 \times 65057.956 + 925205.323} = 0.062$$

灌浆层最大压应力:

$$f = \frac{n(P_d - pF) + nF}{A_f} = \frac{208 \times (1.0 \times 660.0 \times 1.2 - 0.06 \times 586.34) + 208 \times 586.337}{6.18} = 45175.062 \text{ kPa} = 45.175 \text{ MPa}$$

式中: P_d — 基本组合下, 锚栓预拉力的设计值 (N); F — 基本组合下, 极端荷载工况下单根预应力锚栓对应单元格受到的最大竖向力设计值 (N); n — 锚栓数量。

局部压力设计值: $F_l = fA_f = 279175.766 \text{ kN}$

局部受压截面尺寸验算:

局部受压面积 $A_l = 6.622 \text{ m}^2$; 局部受压的计算底面积 $A_b = 9.501 \text{ m}^2$ 。

混凝土局部受压强度提高系数:

$$\beta_l = \sqrt{\frac{A_b}{A_l}} = \sqrt{\frac{9.501}{6.622}} = 1.198$$

局部压力: $\omega \beta_l f_{cc} A_l = 1.0 \times 1.198 \times 59890.0 \times$

$6.18 = 443329.188 \text{ kN}$

$1.1 \times 279175.766 = 307093.343 \text{ kN} \leq 443329.188 \text{ kN}$, 满足《混凝土结构设计规范》D.5.1 条规定。

1.3.2 高强灌浆料下混凝土局压验算

外荷载作用于单元隔离体最大压力计算:

$$F = \frac{4M}{nD} + \frac{N}{n} = \frac{4 \times 131160.0}{208 \times 4.582} + \frac{7457.97}{208} = 586.337 \text{ kN}$$

高强灌浆净面积: $A_f = 9.059 \text{ m}^2$

单根锚栓等效弹簧刚度:

$$C_s = \frac{E_s A_s}{L_s} = \frac{210000.0 \times 1470.0}{4745.0} = 65057.956 \text{ N/mm}$$

基础等效弹簧刚度:

$$C_d = \frac{\tan \alpha E_c c}{\ln \left(1.0 + \tan \alpha \frac{h}{w} \right)} = \frac{\tan 15^\circ \times 32500.0 \times 138.411}{\ln \left(1 + \tan 15^\circ \times \frac{4600.0}{460.0} \right)} = 925205.323 \text{ N/mm}$$

预应力锚栓分力系数:

$$p = \frac{c_s}{2c_s + c_d} = \frac{65057.956}{2 \times 65057.956 + 925205.323} = 0.062$$

最大压应力:

$$f = \frac{n(P_d - pF) + nF}{A_f} = \frac{208 \times (1.0 \times 660.0 \times 1.2 - 0.06 \times 586.34) + 208 \times 586.337}{9.059} = 30818.116 \text{ kPa} = 30.818 \text{ MPa}$$

局部压力设计值: $F_l = fA_f = 279175.766 \text{ kN}$

局部受压截面尺寸验算: 局部受压面积: $A_l = 9.501 \text{ m}^2$

局部受压的计算底面积: $A_b = 28.502 \text{ m}^2$

混凝土局部受压强度提高系数:

$$\beta_l = \sqrt{\frac{A_b}{A_l}} = \sqrt{\frac{28.502}{9.501}} = 1.732$$

局部承载力: $1.35 \beta_l f_{cc} A_l = 1.35 \times 1.0 \times 1.732 \times 19100.0 \times 9.059 = 404575.332 \text{ kN}$

$1.1 \times 279175.766 = 307093.343 \text{ kN} \leq 404575.332 \text{ kN}$, 满足《混凝土结构设计规范》6.6.1

条规定。

局部受压承载力验算:

混凝土核心面积: $A_{cor} = 28501659.527 \text{ mm}^2$, 计算深度: $h = 1980.0 \text{ mm}$

钢筋根数: $n_1 = 104.0$, 钢筋根数: $n_2 = 30.0$, 钢筋面积: $A_{s1} = 4234.867 \text{ mm}^2$, 钢筋面积: $A_{s2} = 314.159 \text{ mm}^2$ 。

体积配箍率:

$$\rho_v = \frac{n_1 A_{s1} l_1 + n_2 A_{s2} l_2}{A_{cor} h} = \frac{104.0 \times 4234.867 \times 1980.0 + 30.0 \times 314.159 \times 14394.778}{28501659.527 \times 1980.0}$$

$$= 0.018$$

配置间接钢筋的局部受压强度提高系数:

$$\beta_{cor} = \sqrt{\frac{A_{cor}}{A_l}} = \sqrt{\frac{28.502}{9.501}} = 1.732$$

局部承载力: $0.9(\beta_c \beta_l f_c + 2\alpha \rho_v \beta_{cor} f_{yv}) A_f = 0.9 \times (1.0 \times 1.732 \times 19100.0 + 2 \times 1.0 \times 0.01786 \times 1.732 \times 360000.0) \times 9.059 = 451271.837 \text{ kN}$

$1.1 \times 279175.766 = 307093.343 \text{ kN} \leq 451271.837 \text{ kN}$, 满足《混凝土结构设计规范》6.6.3 条规定。

1.3.3 下锚板上混凝土局压验算

锚栓最大竖向拉力设计值:

$$N_t = \frac{4M}{nD} - \frac{N}{n} = \frac{4 \times 131160.0}{208 \times 4.582} - \frac{7457.97}{208} = 514.626 \text{ kN}$$

下锚板净面积: $A_{fx} = 5.765 \text{ m}^2$

单根锚栓等效弹簧刚度:

$$C_s = \frac{E_s A_s}{L_s} = \frac{210000.0 \times 1470.0}{4745.0} = 65057.956 \text{ N/mm}$$

基础等效弹簧刚度:

$$C_d = \frac{\tan \alpha E_c c}{\ln \left(1.0 + \tan \alpha \frac{h}{w} \right)} = \frac{\tan 15^\circ \times 32500.0 \times 138.411}{\ln \left(1 + \tan 15^\circ \times \frac{4600.0}{460.0} \right)} = 925205.323 \text{ N/mm}$$

预应力锚栓分力系数:

$$p = \frac{c_s}{2c_s + c_d} = \frac{65057.956}{2 \times 65057.956 + 925205.323}$$

$$= 0.062$$

最大压应力:

$$f = \frac{n(P_d + pN_t)}{A_{fx}} = \frac{208 \times (1.0 \times 660.0 \times 1.2 + 0.06 \times 514.63)}{5.765}$$

$$= 29720.628 \text{ kPa} = 29.721 \text{ MPa}$$

局部压力设计值: $F_l = f A_{fx} = 171334.891 \text{ kN}$

局部受压截面尺寸验算:

局部受压面积: $A_l = 6.19 \text{ m}^2$

局部受压的计算底面积: $A_b = 18.569 \text{ m}^2$

混凝土局部受压强度提高系数:

$$\beta_l = \sqrt{\frac{A_b}{A_l}} = \sqrt{\frac{18.569}{6.19}} = 1.732$$

局部承载力: $1.35\beta_c \beta_l f_c A_{fx} = 1.35 \times 1.0 \times 1.732 \times 19100.0 \times 5.765 = 257463.458 \text{ kN}$

$1.1 \times 171334.891 = 188468.38 \text{ kN} \leq 257463.458 \text{ kN}$, 满足《混凝土结构设计规范》6.6.1 条规定。

局部受压承载力验算: 混凝土核心面积: $A_{cor} = 18569263.025 \text{ mm}^2$

计算深度: $h = 1290.0 \text{ mm}$, 钢筋根数: $n_1 = 104.0$, 钢筋根数: $n_2 = 30.0$

钢筋面积: $A_{s1} = 2827.433 \text{ mm}^2$, 钢筋面积: $A_{s2} = 314.159 \text{ mm}^2$

体积配箍率:

$$\rho_v = \frac{n_1 A_{s1} l_1 + n_2 A_{s2} l_2}{A_{cor} h} = \frac{104.0 \times 2827.433 \times 1290.0 + 30.0 \times 314.159 \times 14394.778}{18569263.025 \times 1290.0}$$

$$= 0.021$$

配置间接钢筋的局部受压强度提高系数:

$$\beta_{cor} = \sqrt{\frac{A_{cor}}{A_l}} = \sqrt{\frac{18.569}{6.19}} = 1.732$$

局部承载力: $0.9(\beta_c \beta_l f_c + 2\alpha \rho_v \beta_{cor} f_{yv}) A_{fx} = 0.9 \times (1.0 \times 1.732 \times 19100.0 + 2 \times 1.0 \times 0.0215 \times 1.732 \times 360000.0) \times 5.765 = 310747.383 \text{ kN}$

$1.1 \times 171334.891 = 188468.38 \text{ kN} \leq 310747.383 \text{ kN}$, 满足《混凝土结构设计规范》6.6.3 条规定。

2 结论

本文结合工程实例, 计算了梁板式预应力锚栓

光热电站吸热塔风荷载计算对比分析

李德坤, 吴 刚, 龙 琦, 杨 华, 吴金海

(中国电建集团江西省电力设计院有限公司, 江西 南昌 330096)

摘 要: 风荷载是吸热塔结构设计的主要控制参数, 由于吸热塔刚度及质量存在突变, 因此国内现行规范《烟囱工程技术标准》(GB 50051—2021) 及《建筑结构荷载规范》(GB 50009—2012) 在计算风荷载时并不适用于此类结构, 针对吸热塔结构这种特性, 中国电力顾问集团西北电力设计院有限公司颁布了《太阳能热发电厂吸热塔结构设计规范》(NB/T 11166—2023), 但在实际工程中却应用较少。本文结合有限元软件 Midas Gen, 建立某光热项目吸热塔有限元模型, 采用三本国内现行规范计算吸热塔结构各个高度水平截面风荷载内力, 对比分析了三本规范在顺风向工况、横风向工况以及顺风与横风组合工况下内力的差异, 最后, 通过对比风洞实验数据, 验证上述三本规范计算吸热塔风荷载响应的准确性, 给出设计指导依据。

关键词: 光热电站, 吸热塔, 风荷载, 振型

中图分类号: TU279.7 文献标识码: A 文章编号: 1003-6563(2025)04-0081-06

Wind load calculation and comparison of heat receiving towers in solar thermal power plants

LI Dekun, WU Gang, LONG Qi, YANG Hua, WU Jinhai

(PowerChina Jiangxi Electric Power Engineering Co. Ltd., Nanchang 330096, China)

Abstract: Wind load is the main control parameter in the design of heat receiving tower structures. Due to the sudden changes in stiffness and mass of the heat receiving tower, the current national standards GB 50051—2021

风机基础肋梁钢筋和裂缝宽度、上锚板下高强灌浆局压承载力、高强灌浆料下混凝土局压承载力、下锚板上混凝土局压承载力。从具体计算方法和流程来看, 符合现行相关的国家规范。梁板式风机基础具有各向同性更好, 受力性能更均匀, 安全性相对更高, 工程造价低的优点, 未来的应用前景广阔。下一步结合风机基础有限元计算分析, 优化基础体型和钢筋的计算, 以使梁板式风机基础的整体结构更加安全可靠, 指导风机基础的设计、施工及运行管理。

参考文献【REFERENCES】

- [1] 何夏岚. 预应力全装配式混凝土风机基础计算方法研究[D]. 北京: 北方工业大学, 2024.
- [2] 李硕. 高原型风机新型梁板式预应力锚栓基础应用[J]. 云南水力发电, 2021, 37(11): 120-123.

- [3] ARSHAD M, O' KELLY B. Global status of wind power generation: theory, practice, and challenges [J]. International journal of green energy, 2019, 16(14): 1073-1090.
- [4] PHAM H V, DIAS D, MIRANDA T, et al. 3D numerical modeling of foundation solutions for wind turbines [J]. International journal of geomechanics, 2018, 18(12): 04018164.
- [5] 国家能源局. 陆上风电场工程风电机组基础设计规范: NB/T 10311—2019[S]. 北京: 中国电力出版社, 2019.
- [6] 朱艳艳, 陈永安, 朱立群, 等. 风电机组圆形梁板式基础肋梁配筋计算[J]. 电网与清洁能源, 2013, 29(5): 87-92.
- [7] 吴强, 贺广零, 邹庆水. 预应力锚栓风机基础设计局压承载力探讨[J]. 工程建设与设计, 2022(3): 32-35.

收稿日期: 2024-08-14; 修回日期: 2024-08-19

作者简介: 刘建峰(1984-), 男, 河北张家口人, 中级工程师, 本科, 研究方向为新能源项目管理。

and GB 50009-2012 are not applicable to this type of structure when calculating the wind load. In response to the characteristics of heat receiving towers, the Northwest Electric Power Design Institute has issued the standard NB/T 11166-2023, but it is not commonly applied in practical engineering. This article uses the finite element software Midas Gen to establish a finite element model of the heat receiving tower of a certain solar thermal project. The three standards mentioned above are used to calculate the wind load internal forces of the horizontal sections of the heat receiving tower at different heights. The differences in the internal forces calculated by the three standards under downwind, crosswind, and combined downwind-crosswind conditions are compared and analyzed. Finally, by comparing the wind tunnel experimental data, the accuracy of the three standards in calculating the wind load response of the heat receiving tower is verified, and the design guidance is provided.

Keywords: solar thermal power plant, heat receiving tower, wind load, vibration mode

0 引言

吸热塔为塔式光热电站特有的核心构筑物,其高度较高,并对风荷载敏感,属于高耸结构的范畴,但又不同于常规的高耸结构,有大质量的吸热器和设备集中布置于吸热塔顶部,因此其刚度及质量沿高度变化不均匀,这对于风荷载作用下结构的抗风特别不利,同时,工艺布置对于吸热塔顶部位移又有控制要求,因此风荷载是其设计控制的主要参数^[1]。

目前,国内吸热塔结构设计风荷载计算主要参考的规范为《烟囱工程技术标准》(GB 50051—2021)^[2]以及《建筑结构荷载规范》(GB 50009—2012)^[3],陈俊岭^[4]通过对某混合结构吸热塔进行有限元建模分析及数值模拟,研究结果表明,对于质量刚度体型沿高度变化不均匀的塔式结构,按照荷载规范的风振系数取值不再适用,会造成结构设计冗余度过大或者偏于不安全,需通过风洞试验和数值模拟等方法作进一步计算分析。

针对光热电站吸热塔结构的特殊性,由中国电力顾问集团西北电力设计院主编的《太阳能热发电厂吸热塔结构设计规范》(NB/T 11166—2023)^[5]已正式颁布,但在实际工程中应用较少,本文将依托某光热电站项目,以上述三本规范为依据,分别计算吸热塔在风荷载作用下的响应,最后,通过对比吸热塔风洞实验数据,验证上述三本规范计算吸热塔风荷载响应的准确性。

1 有限元模型建立

本文吸热塔有限元分析软件采用 Midas Gen,厂

址所在地 100 年一遇风压值为 0.58 kN/m^2 ,场地类别为 A 类,吸热塔总高度为 229 m,其中混凝土筒体部分为 189 m,顶部吸热器钢结构高度为 40 m,塔筒截面参数如表 1 所示。

表 1 塔筒截面参数

高度/m	筒径/m	壁厚/mm	强 度
0	23	700	C45
12	23	700	C45
24	22.469	650	C40
36	21.938	600	C40
48	21.407	600	C40
60	20.876	550	C40
72	20.345	550	C40
84	19.814	550	C40
96	19.283	500	C40
108	18.752	500	C40
120	18.211	500	C40
132	17.690	450	C40
142	17.247	450	C40
152	16.800	450	C40
165.9	16.800	420	C40
168	16.800	503	C45
174	16.800	744	C45
180	16.800	984	C45
184.7	16.800	1100	C45
189	16.800	750	C45

吸热塔混凝土塔筒外形及顶部钢结构吸热器外形如图 1 所示。

混凝土筒体部分采用板单元模拟,筒内钢结构及顶部吸热器钢结构采用梁单元及桁架单元模拟,钢结构材料为 Q355D。熔盐及管道荷载由工艺专业提资确定,中间层每隔 12 m 设置一处检修平台。

吸热塔外形及有限元模型如图 2 所示。

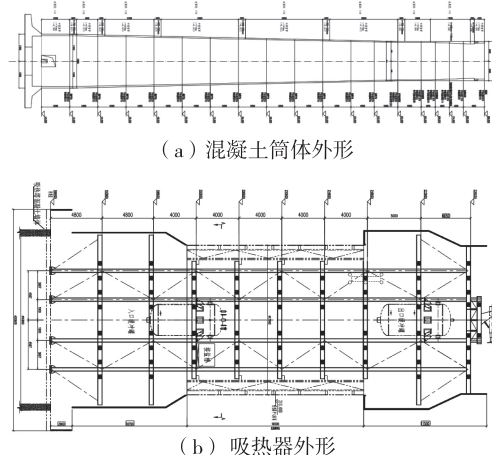


图 1 混凝土筒体外形和吸热器外形

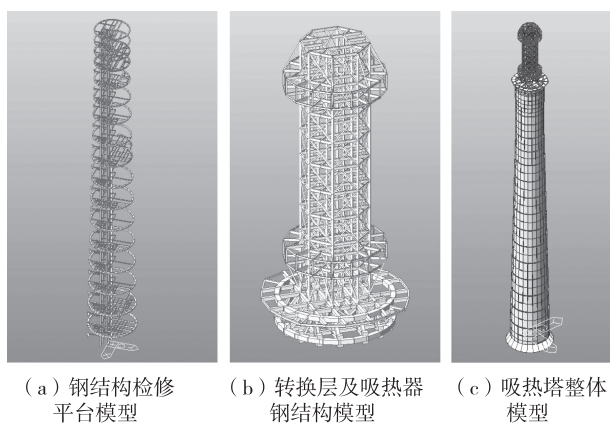


图 2 有限元模型

在进行风振响应分析之前,应分析吸热塔的自振特性,自振特性包含自振周期及频率,自振特性是分析结构动力响应的重要参数,图 3 是吸热塔前三阶振型结果,从振型分析结果来看,前两阶振型周期较为接近,且均以平动为主。

2 风荷载计算

2.1 振型函数计算

根据《建筑结构荷载规范》(GB 5009—2012)附录 G,对于高耸结构,其第一阶振型函数可按弯曲型考虑,函数近似公式如式(1)所示,公式中 H 表示结构总高度。

$$\phi_1 = \frac{6z^2H^2 - 4z^2H + z^4}{3H^4} \quad (1)$$

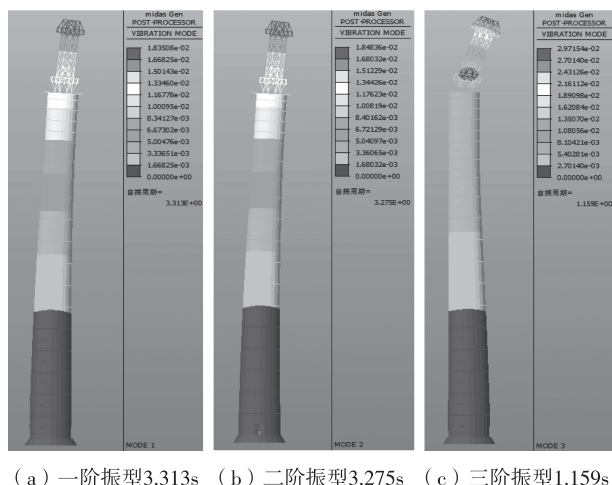


图 3 吸热塔前三阶振型结果

由于本文中吸热塔采用混合结构,即转换层(189~229 m)以上采用钢结构,转换层以下(0~189 m)采用混凝土结构,其振型函数在 189 m 处存在突变,因此《建筑结构荷载规范》中所述公式并不适合此类结构,本文将读取有限元模型中各个高度处的振型函数数值,并对其进行拟合,模拟其真实振型函数曲线。拟合数据如图 4 所示。

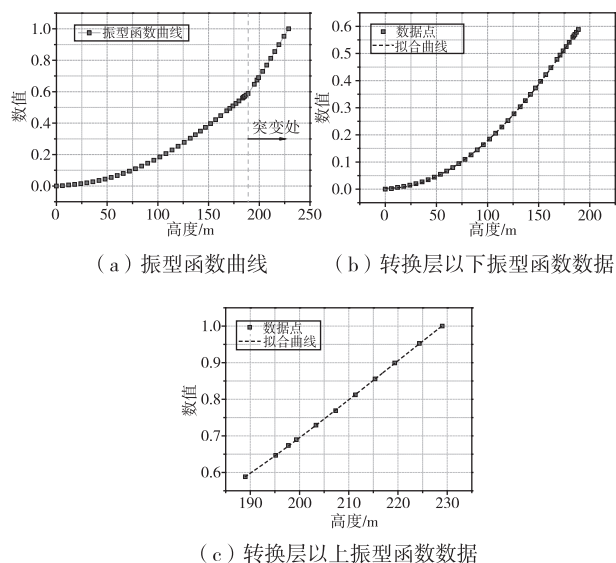


图 4 振型函数曲线及拟合数据

拟合函数见公式(2)及公式(3),拟合函数相关性系数均为 0.999,拟合相关性较好。

$$0 \sim 189 \text{ m}: \phi_1 = -1.89E(-8) \times z^3 + 2.07E(-5) \times z^2 - 1.312E(-4) \times z + 0.00379 \quad (2)$$

$$189 \sim 229 \text{ m}: \phi_1 = -5.788E(-7) \times z^3 + 3.797E(-4) \times z^2 - 0.072z + 4.603 \quad (3)$$

2.2 阻尼比确定

对于结构阻尼比的取值,考虑到《建筑结构荷载规范》及《烟囱工程技术标准》中并未规定混合结构阻尼比,因此在使用《建筑结构荷载规范》及《烟囱工程技术标准》计算风荷载效应时,本文将参考《高耸结构设计标准》GB 50135—2019^[6]中 4.4.6 条附注所述,对于上部钢结构、下部钢筋混凝土的高耸结构,换算阻尼系数可根据该振型振动时能量耗散等效原则确定。根据《建筑结构荷载规范》,钢结构部分阻尼比 ζ_1 取值为 0.010,混凝土部分阻尼比 ζ_2 取值为 0.05,换算公式见式(4),换算后等效阻尼比 ζ_3 计算值为 0.0162,近似取值 0.0160。

$$\frac{1}{\zeta_3} = \left(\int_0^{189} \phi_1 z_t dz \times \frac{1}{\zeta_1} + \int_{189}^{229} \phi_1 z_t dz \times \frac{1}{\zeta_2} \right) / \int_0^{229} \phi_1 z_t dz \quad (4)$$

2.3 顺风向荷载计算

对于顺风向风荷载的计算,《建筑结构荷载规范》《烟囱工程技术标准》《太阳能热发电厂吸热塔结构设计规范》三本规范计算理论相似,公式(5)为三本规范顺风向风压计算公式,公式中均由风振系数 β_z 、体型系数 μ_s 、风压高度变化系数 μ_z 以及基本风压 ω_0 组成,其中风压高度变化系数 μ_z 在三本规范中的计算公式均相同;对于体型系数 μ_s ,《建筑结构荷载规范》中取值为 0.6,《烟囱工程技术标准》与《太阳能热发电厂吸热塔结构设计规范》取值均为 0.65,但考虑到吸热塔顶部吸热器为正十六边形,底部混凝土塔筒为圆形,因此采用《建筑结构荷载规范》及《烟囱工程技术标准》计算时,顶部吸热器处体型系数将参照《高层建筑混凝土结构技术规程》JG J3 - 2010 中规定的正多边形建构物体型系数计算公式,计算所得吸热器部分体型系数为 1.1。对于风振系数 β_z ,《太阳能热发电厂吸热塔结构设计规范》^[4] 通过引入直径沿高度变化系数 γ_D 以及结构质量与振型变化系数 γ_M 来考虑结构质量及刚度突变所带来的影响,而《建筑结构荷载规范》及《烟囱工程技术标准》并未考虑此影响。

$$\omega_k = \beta_z \times \mu_s \times \mu_z \times \omega_0 \quad (5)$$

$$\beta_z = 1 + 2g \times I_{10} \times b_z \times \sqrt{1 + R^2} \quad (6)$$

$$\beta_z = 1 + \frac{\gamma_D \times \gamma_M \times \gamma_{ap}}{\sqrt{\epsilon_s}} \quad (7)$$

吸热塔各高度处质量分布曲线如图 5 所示。

由图 5 可知,在转换层以下(0 ~ 189 m)高度范围,塔筒质量分布随着高度增加逐渐减小,而在 162 ~ 189 m 范围内,由于此范围部分设备层采用混凝土楼板,楼板质量较大,特别在 189 m 转换层处,此处需要采用厚板设计以保证其刚度,使其更好地传递水平剪力,因此其质量变化在此处存在较大突变;在吸热器高度范围内(189 ~ 229 m),由于工艺管道及熔盐罐布置原因,其质量分布较为离散,特别是在顶部 219 m 处布置有熔盐储罐,此处质量急剧增大。吸热塔各高度水平截面处剪力及弯矩计算值如图 6 所示。

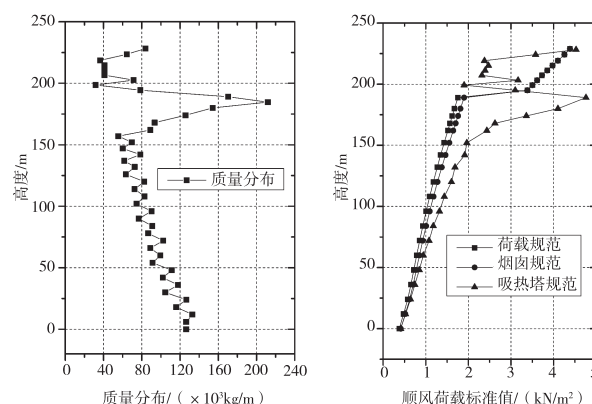


图 5 质量分布沿高度变化曲线

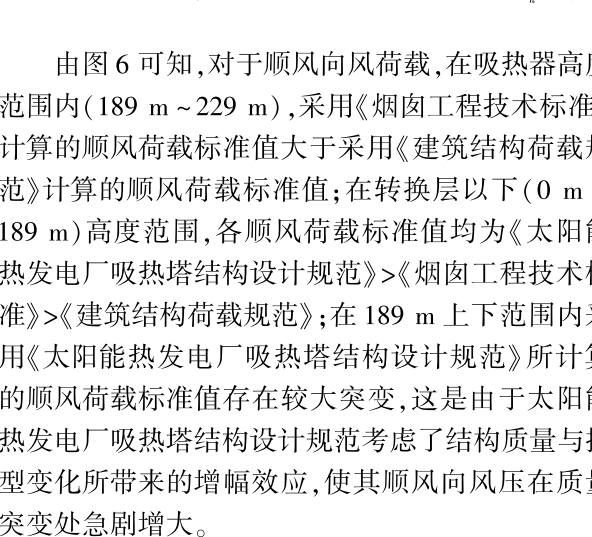


图 6 顺风向荷载 ω_k 计算值

由图 6 可知,对于顺风向风荷载,在吸热器高度范围内(189 m ~ 229 m),采用《烟囱工程技术标准》计算的顺风向荷载标准值大于采用《建筑结构荷载规范》计算的顺风向荷载标准值;在转换层以下(0 m ~ 189 m)高度范围,各顺风向荷载标准值均为《太阳能热发电厂吸热塔结构设计规范》>《烟囱工程技术标准》>《建筑结构荷载规范》;在 189 m 上下范围内采用《太阳能热发电厂吸热塔结构设计规范》所计算的顺风向荷载标准值存在较大突变,这是由于太阳能热发电厂吸热塔结构设计规范考虑了结构质量与振型变化所带来的增幅效应,使其顺风向风压在质量突变处急剧增大。

2.4 横风共振荷载计算

对于横风向风荷载的计算,《建筑结构荷载规范》《烟囱工程技术标准》计算公式相同,与《太阳能热发电厂吸热塔结构设计规范》存在较大差异,公式(8)为《建筑结构荷载规范》及《烟囱工程技术标准》横风向风压计算公式,公式(9)为《太阳能热发

电厂吸热塔结构设计规范》横风向风压计算公式。

$$\omega_{lk,j} = |\lambda_j| v_{cr}^2 \phi_j(z) / 12800 \zeta_j \quad (8)$$

$$\omega_{lk} = \beta_L \times c_L \times \mu_{Ls} \times \omega_0 \quad (9)$$

横风共振下吸热塔各高度水平截面处剪力及弯矩计算值如图 7 所示。

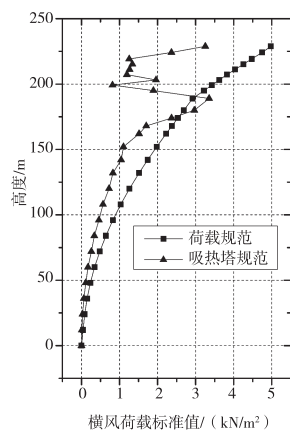


图 7 横风荷载 ω_{lk} 标准值

由图 7 可知,对于临界风速下所产生的横风向涡激共振荷载,《建筑结构荷载规范》与《烟囱工程技术标准》计算公式完全一致,采用《建筑结构荷载规范》计算的横风荷载标准值与采用《太阳能热发电厂吸热塔结构设计规范》计算值存在较大差异,且采用《建筑结构荷载规范》计算结果均大于《太阳能热发电厂吸热塔结构设计规范》。

2.5 顺风与横风组合效应分析

对于横风与顺风的组合效应计算,三本规范计算公式不尽相同,各规范计算公式如式(10)、式(11)、式(12)所示,其中《烟囱工程技术标准》横风荷载与顺风荷载组合时,其顺风向风压取值为临界风速所对应风压,其余两本规范取值均为设计风速所对应风压。

$$F_{\text{最不利}} = \max(F_{Dk}, 0.6F_{Dk} + F_{lk}) \quad (10)$$

$$F_{\text{最不利}} = \max\left(F_{Dk}, \sqrt{\frac{F_{Dk}^2}{\beta_z} + F_{lk}^2}\right) \quad (11)$$

$$F_{\text{最不利}} = \max(F_{Dk}, \sqrt{F_{Dk}^2 + F_{lk}^2}) \quad (12)$$

横风与顺风组合工况下吸热塔各高度水平截面处数据如图 8 所示。

由图 8 可知,在横风与顺风组合效应下,采用《建筑结构荷载规范》计算的组合值大于采用《烟囱工程技术标准》计算值,这是由于《烟囱工程技术标准》在进行组合工况计算时,当横风工况为主导荷

载,其顺风荷载取值为临界风速对应风压,另外两本规范取值均为设计风压。

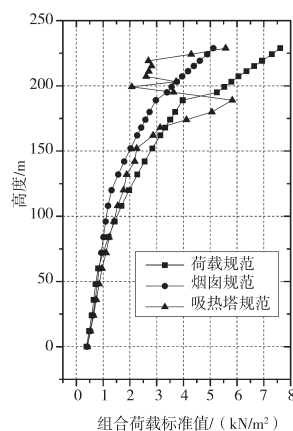


图 8 组合荷载计算值

3 风洞试验

3.1 风洞试验模型制作

本文中吸热塔风洞试验委托给某高校风洞实验室,研究内容如下:

(1)设计并制作了吸热塔结构比例为 1/200 的气弹模型,模型采用铝合金材料制作。

(2)对气弹模型进行了模态参数识别,由此确定模型的振动频率、阻尼比及振型,并与设计目标值进行比较。

(3)根据《建筑结构荷载规范》(GB 50009—2012)调试出 A 类地貌风场。



图 9 吸热塔物理模型

(4)对气弹模型进行阻尼比分别为 0.7%、

1.0%、1.5%及2.0%的风振响应测试,以获得设计风速范围内的最大基底剪力和弯矩、最大塔顶加速度和位移响应,并得到阻尼比对上述响应的影响规律。

通过上述研究,利用基座处设置的传感器测得模型底部剪力与弯矩,并将其按比例换算成实际值。

3.2 理论值与实测值对比

为方便对比,本文底部剪力及弯矩实测值阻尼比取值均为1.60%,对比结果见图10。由图可知,在顺风工况下,采用三本规范所计算底部剪力值与实测值相比均较为接近;采用《太阳能热发电厂吸热塔结构设计规范》所计算底部弯矩值则远大于实测值,约为实测值1.34倍,采用《建筑结构荷载规范》及《烟囱工程技术标准》所计算底部弯矩值大于实测值,综合来看,采用《建筑结构荷载规范》及《烟囱工程技术标准》计算的底部弯矩值与实测值最为接近。综上,本文推荐在计算吸热塔顺风荷载工况时可采用《建筑结构荷载规范》及《烟囱工程技术标准》中相应计算公式。

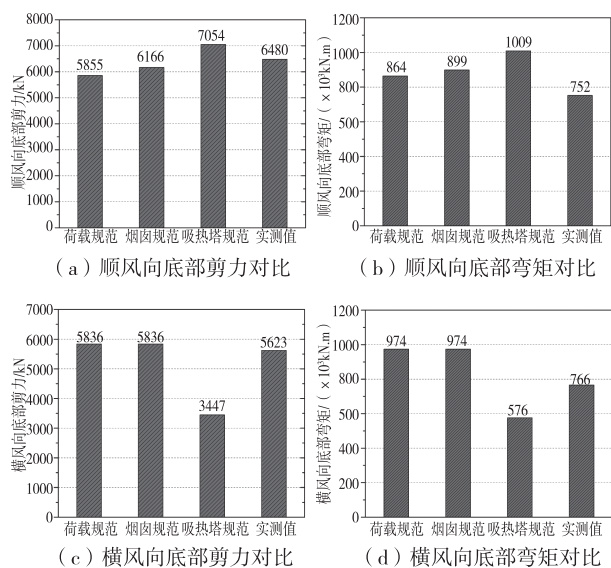


图 10 顺风向和横风向底部剪力对比、底部弯矩对比

4 结束语

本文总结了吸热塔结构设计中常用的三本规范,并结合某光热项目建立了吸热塔的有限元模型,从顺风向工况、横风向工况以及顺风与横风组合工况下依次对比分析了三本规范计算结果的异同,最后将计算结果与风洞试验实测值进行对比,依据所分析结果,建议在光热项目吸热塔风荷载计算中,分别采用《建筑结构荷载规范》与《太阳能热发电厂吸热塔结构设计规范》进行计算,并取其大值进行包络设计。

参考文献【REFERENCES】

- [1] 许继刚,汪毅.塔式太阳能光热发电站设计关键技术[M].北京:中国电力出版社,2019.
- [2] 中华人民共和国住房和城乡建设部.建筑结构荷载规范:GB 50009—2012[S].北京:中国建筑工业出版社,2012.
- [3] 中华人民共和国国家标准.烟囱工程技术标准:GB/T 50051—2021[S].北京:中国计划出版社,2021.
- [4] 陈俊岭,高洁,阳荣昌.钢筋混凝土吸热塔顺风向风振响应特征与影响因素分析[J].建筑结构,2022,52(S1):414-419.
- [5] 中华人民共和国住房和城乡建设部.高耸结构设计标准:GB 50135—2019[S].北京:中国计划出版社,2019.
- [6] 国家能源局.太阳能热发电厂吸热塔结构设计规范:NB/T 11166—2023[S].北京:中国计划出版社,2023.

收稿日期:2024-09-11;修回日期:2024-09-19

作者简介:李德坤(1993-),男,硕士研究生,一级注册工程师,注册土木工程师(岩土),中国电建集团江西省电力设计院有限公司发电工程分公司土建结构专业,主要从事发电厂土建结构设计与研究工作。

基于 ArcEngine 的数据库质检程序设计

杨 乐¹, 罗家妮², 陈思吉¹, 王 斌¹

(¹ 黔南州自然资源局, 贵州 黔南州 558000; ² 黔南水利水电勘测设计研究院有限公司, 贵州 黔南州 558000)

摘 要: 随着信息技术的快速发展, 各行业对各类数据库的建设需求日益增多, 数据库质量检查的重要性愈发凸显。本文基于 C# 语言编程, 利用 ArcEngine 开发功能, 以黔南州成片开发调整方案数据库质检为例, 构建数据库质检程序设计模型。基于 ArcEngine 的二次开发关键技术, 具体对成片开发调整方案中开发范围图层(KFFW)进行质量检查程序设计, 主要功能有: 要素图层坐标系检查、要素图层字段信息及内容检查、图层矢量边界检查、图层拓扑关系检查、图层记录数检查等五大检查内容, 实现了数据范围是否超界检查、数据库及要素图层字段信息规范性和完整性检查、坐标系统及数据图层拓扑关系正确性等自动性检查功能。

关键词: 成片开发调整方案, 数据库, 开发范围, ArcEngine, 质检

中图分类号: P208 文献标识码: A 文章编号: 1003-6563(2025)04-0087-06

Database quality inspection program design based on ArcEngine

YANG Le¹, LUO Jiani², CHEN Siji¹, WANG Bin¹

(¹ Qiannan Bureau of Natural Resources, Qiannan 558000, China; ² Qiannan Water & Power Survey and Design Institute Co. Ltd., Qiannan 558000, China)

Abstract: With the rapid development of information technology, the demand for various types of databases is increasing, and the importance of database quality inspection is becoming more and more prominent. Based on C# language programming and ArcEngine development function, this paper constructs a database quality control program design model by taking the Qiannan development and adjustment scheme database as an example. Based on the key technology of secondary development of ArcEngine, the quality inspection program of the development scope layer (KFFW) in the development and adjustment scheme is designed, the main functions of which are as follows: element layer coordinate system check, element layer field information and content check, layer vector boundary check, layer topological relationship check, and layer record number check. The program realizes the data range boundary check, the database and element layer field information normalization and integrity check, the coordinate system and data layer topological relationship correctness check, and other automatic check functions.

Keywords: development and adjustment scheme, database, development area, ArcEngine, quality inspection

1 背景

为满足地方经济发展, 需要编制土地征收成片开发方案, 方案是农用地转为建设用地和土地征收的必备要件, 成果包括方案文本、图件、数据库

等^[1-8]。其中数据库成果采用 gdb 格式, 内容包含开发范围(KFFW)、开发区域(KFQY)、开发范围调整(KFFWTZ)、开发区域调整(KFQYTZ)4个图层。方案对开发范围和开发区域的数字精度要求较高, 也相对提高数据库的质量要求。在数据库成果检查中因缺乏自动化检查手段, 常常采取人工检查, 存在

人机交互频繁、效率不高、容易出错的短板弱项。为了实现数据库数据的自动化质检,基于 ArcEngine 的二次开发关键技术,重点对成片开发调整方案中的开发范围图层(KFFW)进行质检程序设计。KFFW 图层有 12 个字段,各字段类型及约束条件等见表 1。

表 1 开发范围属性结构描述表(属性表名:KFFW)

序号	字段名称	字段代码	字段类型	字段长度	小数位数	值域	约束条件	备注
1	标识码	BSM	Char	10			M	
2	片区编号	PQBH	Char	100			M	
3	行政区代码	XZQDM	Char	12			M	县级行政区
4	行政区名称	XZQMC	Char	100			M	县级行政区
5	片区主要用途	PQZYTY	Char	100			M	填写代码
6	面积	MJ	Float	15	2	>0	M	单位:平方米
7	方案名称	FAMC	Char	255			M	本表注 1
8	实施年度	SSND	Char	20			M	XXXX-XXXX 年
9	批准时间	PZSJ	Char	20			M	XXXX.XX.XX
10	批准文号	PZWH	Char	30			M	
11	公益性用地比例	GYXYDBL	Char	10	0	>0	M	XX%
12	备注	BZ	Char	255			0	

注 1:填写编制方案名称;下同。

2 ArcEngine 简介

ArcEngine 被定位为一个嵌入式的产品,它并非面向最终用户,而是一个面向开发者的产品^[9-14]。对于繁冗的 GIS 开发工作而言,理想的解决方案是一个基于组件的实用的开发框架,且该框架允许解决方案提供商或机构内部开发人员快速构建行业专用 GIS 应用软件^[15]。一个 GIS 开发框架应提供应用软件所需的必要的空间分析功能,并允许软件开发人员集中精力构建软件的特定逻辑^[16]。ArcEngine 就是这样一个 GIS 框架,它是为响应 ESRI 用户的请求而创建的,可以把丰富的 ArcGIS 技术按产品进行分类,并将其空间分析功能嵌入新的或已有的应用软件中^[17-19]。ArcEngine 既可以将 GIS 功能嵌入到已有的应用软件中,如自定义行业专用产品;或嵌入到商业生产的应用软件中,如 Mirosoft Word 和 Excel;还可以创建集中式独立应用软件,并将其发送给机构内的多个用户^[20-21]。

3 利用 ArcEngine 开发实现数据库自动化检查功能

数据库自动化检查功能包括:要素图层坐标系检查、要素图层字段信息及内容检查、图层矢量边界检查、图层拓扑关系检查、图层记录数检查等五大检查内容。

3.1 选择数据库

首先,结合项目实际需要选择待检查的数据库,通过代码实现打开指定的数据库。

```
FolderBrowserDialog opendatabasedialog = new
OpenFileDialog();
opendatabasedialog.Description = "请选择待检查
的数据库";
stringdatabase_path = null;
if (opendatabasedialog.ShowDialog() ==
System.Windows.Forms.DialogResult.OK)
{ database_path = opendatabasedialog.Se-
lectedPath; }
else
{ MessageBox.Show("未指定数据库路
径!");return; }
bool databaseopensuccess = false;
IWorkspaceFactory wsf = null;
IFeatureWorkspace ws = null;
try { wsf = new FileGDBWorkspaceFactory();
ws = ( IFeatureWorkspace ) wsf. OpenFromFile
(database_path,0);
databaseopensuccess = true; }
catch { MessageBox.Show("数据库打开
失败!");return; }
```

3.2 选择行政界线

在成片开发的调整方案项目中必须检查要素图层中的矢量数据是否超出其所属行政区的管辖范围,本文采取的方法是将行政区界线先提出并导出成 SHAPFLE 格式存放于指定路径下,运行检查程序时再选择需要的行政区界线。

```
OpenFileDialog XZQopendialog = new OpenFileDi-
alog();
XZQopendialog.Multiselect = false;
```

```

XZQopendialog.Title="请选择行政区界线";
XZQopendialog.Filter="SHAPEFILE 格式|*.SHP";
string XZQ_path=null;
IFeatureClass XZQfc=null;
if(XZQopendialog.ShowDialog()==System.Windows.Forms.DialogResult.OK)
{XZQ_path=XZQopendialog.FileName;}
else
{MessageBox.Show("未指定行政区界线!");return;}
bool openXZQsuccess=false;
try{IWorkspaceFactory shapefile_ws=new ShapefileWorkspaceFactory();
IFeatureWorkspace XZQ_ws=(IFeatureWorkspace)wsf.OpenFromFile(XZQ_path,0);
openXZQsuccess=true;
int index=XZQ_path.LastIndexOf('\\');
string XZQfcName=XZQ_path.Substring(index+1);
XZQfc=XZQ_ws.OpenFeatureClass(XZQfcName);}
catch{MessageBox.Show("行政区数据打开失败!");return;}

```

3.3 读取数据库中的要素图层

指定完数据库和行政区界线矢量数据的完整路径后,通过代码实现读取数据库中待检查的要素图层。

```

stringfc_name="KFFW";
string checkresult=null;
bool Layerexist=false;
IFeatureClass KFFW=null;
try{KFFW=ws.OpenFeatureClass("KFFW");
Layerexist=true;}
catch{checkresult=checkresult+"KFFW 图层打开失败\r\n";return;}

```

3.4 检查要素图层坐标系

坐标系是 GIS 数据重要的数学基础,用于表示地理要素、图像和观测结果的参照系统,坐标系统的定义能够保证地理数据在软件中正确的显示其位置、方向和距离,因此缺少坐标系统的 GIS 数据是不

完善的。坐标系可分为地理坐标系和投影坐标系,结合项目实际,黔南州中央子午线涉及 105 度和 108 度,文中需要检查要素图层定义的投影坐标系名称是否为"CGCS_2000_3_Degree_GK_Zone_35 或 CGCS_2000_3_Degree_GK_Zone_36",其实现代码如下。

```

private void LayerProjectionCheck(IFeatureClass fc,string layer){
IGeoDataset pdataset=fc as IGeoDataset;
ISpatialReference sp=pdataset.SpatialReference;
string projection="CGCS_2000_3_Degree_GK_Zone_36";
if(projection!=sp.Name)
checkresult=checkresult+layer+"图层坐标系定义错误!\r\n";}

```

3.5 检查要素图层字段信息及内容

通过上述可知,开发范围图层的字段信息包含两种数据类型,即文本型和浮点型。由于各字段的检查方法大同小异,文中以检查标识码字段为例给出其实现代码。标识码字段不仅需要检查其字段类型是否为文本型且长度为 10,还需检查各记录字段取值的唯一性,即同一要素图层中不能出现重复的标识码值。需要注意的是,文中在进行字段检查时,若发现字段最基本信息(字段类型)不正确,程序将没必要再检查该字段的其他信息。

标识码字段检查代码如下:

```

paivate void CheckFields(string layer,IFeatureClass fc,string fieldname){
IFields fds=fc.Fields;
if(fieldname.Equals("BSM"))
{IField fd=fds.get_Field(fc.FindField("BSM"));}
if(esriFieldType.esriFieldTypeString==fd.Type)
{if(fd.Length==10)
{ICursor pcursor=(ICursor)fc.Search(null,true);
IRow prow=pcursor.NextRow();
List<string>lst=new List<string>();
while(prow!=null)

```

```

        { string bsm=null;
          try { bsm =
( string)pro.w. get_Value( fc. FindField( " BSM" ) );}
          catch { bsm
=" " ;}
          lst. Add( bsm) ;
          if( bsm. Length
== 0)
            { checkresult =
checkresult +layer+ " 图层 BSM 字段存在空值! \r\n" ;}
          prow = pcur-
sor. NextRow( ) ;}
          uniquecheck( lst, " BSM" ) ;}
        else
          { checkresult = checkre-
sult + layer+ " 图层 BSM 字段长度不对! \r\n" ;}
          else { checkresult = checkresult
+ layer+ " BSM 字段类型不对! \r\n" ;}

```

上述代码中, uniquecheck 函数的实现代码如下:

```

private void uniquecheck( List<string> lst, string
fieldname) {
    for( int i=0; i < lst. Count - 1 ; i
++) {
        for( int j = i + 1 ; j < lst. Count ; j
++) {
            if( lst[ i ]. Equals( lst[ j ] ) )
                check_ result = check_ result + layer + " 图层 BSM
字段存在重复取值! \r\n" ;}

```

3.6 检查图层矢量边界

利用 AcrEngine 提供的 IRelationalOperator:: Within() 接口检查数据库中的各矢量数据是否位于其所属行政区范围以内, 若返回结果为真, 则矢量数据位于行政区范围内, 否则矢量数据位于行政区以外, 并记录错误信息。

```

private void WithinXzqCheck ( IFeatureClass
XZQfc, IFeatureClass fc, string layer) {
    if( XZQfc. FeatureCount( null) == 0 ) {
        checkresult = checkresult + " 行政区矢量数据为
空! \r\n" ; return ;}
    ICursor fc_ cursor = ( ICursor ) fc. Search ( null,

```

```

false) ;
    IRow fc_ row = fc_ yb. NextRow( ) ;
    while( fc_ row ! = null ) {
        IRelationalOperator op = ( IRelationalOperator ) fc
_ row. get_Value( fc. FindField( " SHAPE" ) );
        ICursor XZQ_ cursor = ( ICursor ) XZQfc. Search
( null, false) ;
        IRow XZQ_ row = XZQ_ cursor. NextRow( ) ;
        bool within = false ;
        while( XZQ_ row ! = null )
            { IGeometry ge = ( IGeometry ) XZQ_
row. get_Value( XZQfc. FindField( " SHAPE" ) );
            if( op. Within( ge) == true ) within =
true ;
            xzq_ row = XZQ_ cursor. NextRow( ) ;}
        if( within == false )
            checkresult = checkresult + layer+ " 图层超出行
政边界! \r\n" ;}
        fc_ row = fc_ cursor. NextRow( ) ;}

```

3.7 检查图层拓扑关系

数据库同一图层中的矢量数据须检查其是否存在重叠或交叉的情况, 利用 AcrEngine 提供的 ITopologicalOperator:: Intersect() 接口进行两个面几何之间的交集运算, IGeometry:: IsEmpty() 接口可判断交集结果, 若返回值为假, 则图层中的矢量数据存在重叠或交叉的情况, 并记录错误信息。

```

Private void TopogicalCheck ( IFeatureClass fc,
string layer) {
    List<IGeometry> collection_ one = new List
<IGeometry>( ) ;
    List<IGeometry> collection_ two = new List
<IGeometry>( ) ;
    ICursor cursor = ( ICursor ) fc. Search ( null,
false) ;
    IRow prow = cursor. NextRow( ) ;
    while( prow ! = null ) {
        IGeometry ge = ( IGeometry ) prow. get_Value( fc.
FindField( " SHAPE" ) );
        collection_ one. Add( ge) ;
        collection_ two. Add( ge) ;
        prow = cursor. NextRow( ) ;}
    for( inti=0; i < collection_ one. Count -

```



```
1;i++) {  
    ITopologicalOperator tp = (ITopologicalOperator)  
collection_one[i];  
    for (int j = i + 1; j < collection_  
two.Count; j++) {  
        IGeometry res = tp. Intersect ( collection_two[j],  
esriGeometryDimension. esriGeometry2Dimension );  
        if (res. IsEmpty == false)  
            checkresult = checkresult + layer+ " 图层存在重  
叠或交叉图斑! \r\n";  
    }  
}
```

3.8 检查图层记录数

通过上述检查流程之后,还需判断图层中的记录数是否为空,其实现代码如下。

```
private void CheckfcCount( IFeatureClass fc, string  
layer) {  
    if (fc. FeatureCount( null) == 0)  
        checkresult = checkresult + layer + " 图层记录数  
为 0! \r\n";  
}
```

4 程序的实现与应用

4.1 数据准备

准备县级生产好的土地征收成片开发调整方案资料,需包含土地征收成片开发调整方案数据库成果矢量及县级行政区矢量,如图 1 所示。

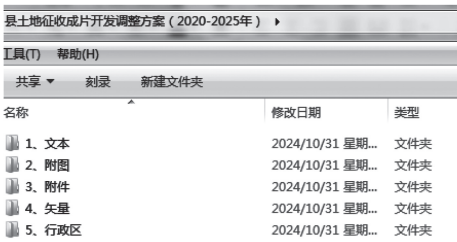


图 1

土地征收成片开发调整方案数据库成果矢量包含 KFFW、KFQY、KFFWTZ、KFQYITZ 4 个图层,如图 2 所示。

4.2 运行程序

运行程序后,弹出程序界面,如图 3 所示。
按照界面显示,依次选择数据库-选择行政区

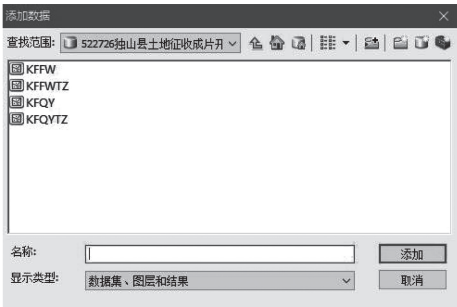


图 2

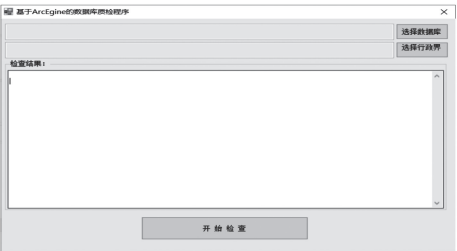


图 3

界线,如图 4、图 5 所示。

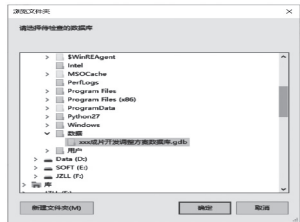


图 4

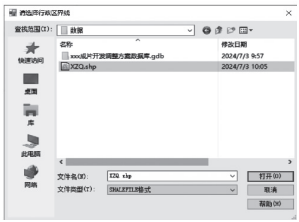


图 5

点击开始检查按钮,程序运行完成后将结果显示在程序界面编辑框中,如图 6 所示。



图 6

5 结语

本文基于 C#语言编程,利用 ArcEngine 开发功能,以黔南州成片开发调整方案数据库质检为例,构

建了数据库质检程序设计模型。通过程序的实现和应用,能够准确快速检查数据库质量问题,较人工作业质检效率大幅提升。实现了数据范围超界检查、数据库及要素图层字段信息规范性和完整性检查、坐标系统及数据图层拓扑关系正确性检查等功能。在应用中将进一步完善质检报告输出和多个数据库同步检查的设计。

参考文献【REFERENCES】

- [1] 关东强. 土地征收成片开发法律规制研究[D]. 保定: 河北大学, 2024.
- [2] 缪海粟, 周春莲, 沈欣, 等. 土地征收成片开发批后实施监管对策——以浙江省宁波市为例[J]. 中国土地, 2024(6): 40-43.
- [3] 韩朗, 侯敬丽, 何动林, 等. 基于山地城市的土地征收成片开发方案编制思路研究——以贞丰县为例[J]. 西部资源, 2024(3): 90-93.
- [4] 张莎莎. 张家口市土地征收成片开发实践研究[J]. 河北建筑工程学院学报, 2024, 42(2): 61-65.
- [5] 刘冰洁. 公益性: 土地征收成片开发方案对国土空间规划的传导[J]. 城市建筑, 2024, 21(14): 144-147.
- [6] 侯敏. 土地征收成片开发方案编制策略研究——以福建省霞浦县溪南镇老鸦头片区为例[J]. 中国住宅设施, 2024(8): 71-73.
- [7] 苏梅琳. 福建土地征收成片开发政策的实践分析[J]. 福建地质, 2024, 43(3): 248-252.
- [8] 江丽, 李延国, 耿志鹏, 等. 土地征收成片开发方案政策设计优化研究[J]. 北京规划建设, 2024(2): 129-133.
- [9] 吴荣光, 郑开慈, 张加泽, 等. 基于 ArcEngine 农村集体产权制度改革数据处理软件研发与实现[J]. 云南农业, 2024(10): 12-15.

- [10] 张莹, 任玲. 基于 Arcengine 框架的林业 GIS 制图系统[J]. 辽宁林业科技, 2024(4): 75-78.
- [11] 王义. 基于 ArcEngine 的等高线质量检查方法研究[J]. 高速铁路技术, 2024, 15(3): 8-12.
- [12] 徐海勇, 张寿雨. 基于 ArcEngine 的“变更调查”数据质检工具设计与实现[J]. 测绘与空间地理信息, 2024, 47(1): 120-122.
- [13] 张寿雨. 基于 ArcEngine 的三调和变更调查文档批量制作工具[J]. 测绘与空间地理信息, 2023, 46(6): 219-221.
- [14] 张寿雨, 徐慧珺. 基于 ArcEngine 的三调数据流量分析工具设计与实现[J]. 地理空间信息, 2023, 21(2): 130-132.
- [15] 叶瑞明, 马岩. 基于 FME 的权籍调查数据库质检程序设计与应用[J]. 北京测绘, 2023, 37(3): 346-350.
- [16] 张珂璇, 谭刚, 高炳浩, 等. 公示地价体系数据库质检系统开发设计研究[J]. 测绘与空间地理信息, 2024, 47(S1): 252-253.
- [17] 贾鸿杰. 质检数据库的构建与应用[J]. 新闻传播, 2024(9): 80-82.
- [18] 杨候勇. 不动产地理信息质检数据库的创建和使用[J]. 工程建设与设计, 2023(17): 147-149.
- [19] 郭结琼. 基于 ArcGIS Engine 的村庄规划数据库质检方法研究[J]. 科技资讯, 2023, 21(7): 10-13.
- [20] 贾斌, 李鹏辉, 李蕾, 等. 地理空间数据库质检平台设计[J]. 地理空间信息, 2022, 20(10): 134-137.
- [21] 王慧, 陈慧媛, 熊娟. 国土空间总体规划数据库建库与质检问题研究[J]. 房地产世界, 2021(18): 58-60.

收稿日期: 2024-11-03; 修回日期: 2024-11-13

作者简介: 杨 乐(1980-), 男, 硕士, 高级工程师, 主要从事测绘及土地资源管理研究工作。

基于响应自相关与深度自编码器的结构损伤识别方法

常伟东^{1,2}, 黄金文³

(¹ 北京城建华晟交通建设有限公司, 北京 101300; ² 湖南农业大学 生物科学技术学院, 湖南 长沙 410128; ³ 江西理工大学 土木与测绘工程学院, 江西 赣州 341000)

摘要: 数据驱动的有监督结构损伤识别方法在训练阶段需要损伤样本, 然而, 获取损伤样本是不现实的。对此, 本文提出了一种仅利用结构健康样本的无监督损伤识别方法。该方法首先利用滑动窗口对加速度响应进行切分处理; 然后对切分的信号进行自相关运算, 之后把健康样本的自相关响应输入深度自编码器进行训练; 最后, 在测试阶段, 把测试集的损伤指标值与基于单侧置信区间获取的损伤阈值进行比较, 据此判断结构的健康状况。数值模拟表明, 提出的方法能准确识别结构损伤并表征损伤程度。

关键词: 损伤识别, 无监督, 深度学习, 自编码器

中图分类号: TU311 文献标识码: A 文章编号: 1003-6563(2025)04-0093-04

Structural damage identification method based on response autocorrelation and deep autoencoder

CHANG Weidong^{1,2}, HUANG Jinwen³

(¹ Beijing Urban Construction Huasheng Transportation Construction Co. Ltd., Beijing 101300, China; ² College of Bioscience and Biotechnology, Hunan Agricultural University, Changsha 410128, China; ³ School of Civil Engineering and Surveying & Mapping Engineering, Jiangxi University of Science and Technology, Ganzhou 341000, China)

Abstract: The data-driven supervised structural damage identification method requires damage samples during the training stage, however, obtaining damage samples is not practical. This article proposes an unsupervised damage identification method that only utilizes structurally healthy samples. The method firstly uses a sliding window to segment and process the acceleration response, then performs autocorrelation operation on the segmented signals, and inputs the autocorrelation response of the healthy samples into the deep autoencoder for training. Finally, during the testing stage, the damage index values of the test set are compared with the damage threshold obtained based on a one-sided confidence interval to determine the health status of the structure. Numerical simulation shows that the proposed method can accurately identify structural damage and characterize the degree of damage.

Keywords: damage identification, unsupervised, deep learning, autoencoder

0 引言

由于长期处于在复杂、多变的运营环境中, 工程结构不可避免的会出现损伤。损伤的出现会降低结构的局部刚度, 严重时甚至致使结构出现断裂、坍塌

塌^[1]。因此, 及时准确地识别结构早期损伤并采取维修措施是保障结构安全运营至关重要的一步。

由于无需建立结构数值模型, 数据驱动的结构损伤识别方法受到广大研究者的青睐。其中, 以数据驱动的有监督的结构损伤识别方法成为了近年来的研究热点。刘雄等^[2]构建了注意力机制加持的

卷积神经网络,实现了三跨连续桥单点损伤和多点损伤高精度、高效率的识别;王慧等^[3]基于卷积神经网络对加筋壁板的螺栓进行了螺栓松动识别;陈宪麦等^[4]构建了一维卷积神经网络支持的水泥乳化沥青砂浆脱空位置识别框架;骆勇鹏等^[5]提出了一种基于一维卷积神经网络的结构损伤识别方法,实现了损伤位置和损伤程度的准确识别。然而,有监督结构损伤识别同时需要结构无损状态和损伤状态的样本来训练神经网络,也需要为每个样本制定标签,但对于正常服役中的结构来说,损伤样本的获取是不现实的,且标签的制定费时费力。因此,发展一种仅需正常样本的无监督损伤识别方法至关重要。

1 损伤识别方法提出

1.1 信号自相关

信号自相关描述了一个信号在不同时间点上其与自身之间的相似程度,这种相似程度可以利用自相关函数来衡量,信号 $x(t)$ 的自相关函数 $R(\tau)$ 为:

$$R(\tau) = E[x(t)x(t+\tau)] \quad (1)$$

式中, τ 是时间延迟, $E(\cdot)$ 是期望运算。自相关函数具有一定的噪声鲁棒性,通过自相关分析可以实现信号去噪效果。在信号处理领域,自相关函数经常被用于检测和提取被噪声污染信号的周期性。

1.2 深度自编码器神经网络

图 1 为标准自编码器神经网络,其只有一个隐含层,因此标准自编码器的特征提取能力有限。深度自编码器在标准自编码器的基础上增加了多个隐含层,从而具有更出色的非线性特征映射能力。深度自编码器的架构具有对称性,由编码器和解码器组成。编码器和解码器的工作原理可以用下式表示:

$$h_1 = \sigma_1(W_1 x + b_1), h_2 = \sigma_2(W_2 h_1 + b_2), \dots, h_k = \sigma_k(W_k h_{k-1} + b_k) \quad (2)$$

$$\bar{h}_{k-1} = f_{k-1}(W_{k+1} h_k + b_{k+1}), \dots, \bar{x} = f_1(W_{2k} \bar{h}_1 + b_{2k}) \quad (3)$$

其中, x 和 $\bar{x}$ 分别是网络的输入和输出, W 和 b 分别是网络的权重和偏置, σ 和 f 是激活函数。深度自编码器的参数优化是通过梯度下降算法实现的,优

化目标则是使 $\bar{x} \approx x$ 。

本文构建了一个 7 层的深度自编码器神经网络,每层神经元的数量为: [512, 256, 128, 64, 128, 256, 512], 这个深度自编码器有 4 个全连接层,其中前 3 个全连接层的激活函数都为 PReLU, 最后一层全连接层的激活函数为 Linear(即线性激活函数)。

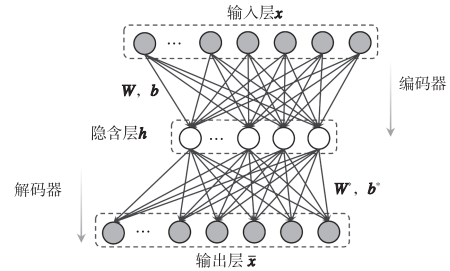


图 1 标准自编码器神经网络

1.3 损伤识别指标

当仅利用健康数据去训练深度自编码器时,训练后的深度自编码器对损伤数据的重构效果较差。因此,通过对比输入值和重构值的差异程度就能定义损伤识别指标。本文选择均方根误差(MSE)作为损伤识别指标,具体表达式为:

$$DI_{MSE} = \frac{1}{m} \sum_{i=1}^m \{x(i) - \bar{x}(i)\}^2 \quad (4)$$

其中, DI_{MSE} 是损伤识别指标, x 和 $\bar{x}$ 分别是输入值和重构值, m 是深度自编码器输入层的神经元个数,对于本文, m 为 512。值得注意的是,一条动力响应信号可以用滑动窗口切分出若干长度为 512 的动力响应片段,每个片段都可以用深度自编码器进行特征提取和重构。结合式(4),每个片段都可以获取一个损伤指标值。为了获取具有代表性的损伤指标值,对一条动力响应信号中所有片段的损伤指标值进行平均处理,取平均值作为这条动力响应信号最终的损伤指标值。

1.4 损伤阈值

为了更加直观、合理地判断结构的损伤状况,引入单侧置信区间来定义损伤阈值。损伤阈值本质上是“决策值”,当损伤指标值超过损伤阈值时则认为结构出现损伤,相反,如果指标值在损伤阈值以内,则认为结构未出现损伤。由单侧置信区间定义的损伤阈值可以用下式表示:

$$DI_{TH} = \mu + u_{\alpha} \left(\frac{\sigma}{\sqrt{n}} \right) \quad (5)$$

其中, DI_{TH} 是损伤阈值, μ 和 σ 分别是 n 条的动力响应信号损伤指标值的均值和标准差, 本文把显著性水平 α 设为 0.02, 通过查表可知上 α 分位数 $u_{0.02}$ 为 2.06。

1.5 损伤识别流程

本文提出的损伤识别方法具体实现流程如下所示:

Step1: 分别对健康状态的结构和未知状态的结构进行动力响应信号采集, 并用滑动窗口对采集的动力响应信号进行切分处理, 形成动力响应片段;

Step2: 利用式(1)对动力响应片段进行自相关运算, 以获取自相关函数, 其中, 来自结构健康状态的自相关函数被划分为训练集和阈值集, 来自未知结构状态的自相关函数被划分为测试集;

Step3: 利用训练集的自相关函数训练深度自编码器, 一旦训练完成则用于重构阈值集和测试集的自相关函数, 基于阈值集的损伤指标值与单侧置信区间来设定损伤阈值;

Step4: 把测试集的损伤指标值与损伤阈值进行比较, 超过阈值则认为结构出现损伤, 未超过阈值则意味着结构未出现损伤。

2 三层框架结构动力分析

2.1 三层框架结构有限元模型

图 2 是三层框架结构的有限元模型以及测点布置图。外激励方面, 在 1 号测点处的 x 方向施加窄带白噪声, 以模拟环境激励; 响应量测方面, 从 2 号测点中采集 x 方向的加速度响应, 采样频率为 1000 Hz; 分析设置方面, 利用振型叠加法进行时程分析, 并采用柯西阻尼的假定, 即每阶阻尼比均为 0.01; 损伤模拟方面, 折减图 2 所示损伤单元处的弹性模量, 弹性模量折减 10% 意味着结构损伤程度为 10%。

2.2 损伤工况设置

每次时程分析的时长为 10 s, 因此一次时长分析可以从 2 号测点中获取一条时长为 10 s 的加速度响应。如表 1 所示, 本文设置了 3 个工况, 其中

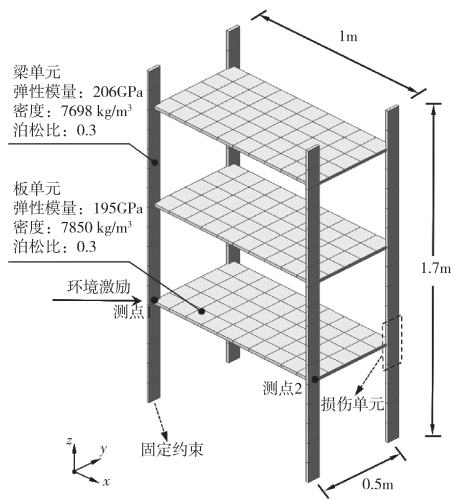


图 2 三层框架结构有限元模型及测点布置

D0 是无损工况, D1 和 D2 分别是损伤程度为 10% 和 20% 的损伤工况, D0、D1 和 D2 工况分别进行了 70、50 和 50 次时程分析。

表 1 工况设置和数据集划分

工况	损伤程度	加速度条数			
		总条数	训练集	阈值集	测试集
D0	0%	70	10	10	50
D1	10%	50	0	0	50
D2	20%	50	0	0	50

3 三层框架结构损伤识别

3.1 模型训练

如表 1 所示, 训练集、阈值集和测试集中加速度的条数为 10、10 和 150。用长度为 512 的滑动窗口对每条加速度进行切分, 滑动窗口的移动步长为 50。因此, 一条 10 s 的加速度可以切分成 190 个长度为 512 的加速度片段。对每个片段进行自相关运算, 那么训练集中的 10 条加速度一共可以形成 1900 个自相关函数。利用训练集的自相关函数进行网络训练, 学习率为 0.0008, 训练轮数为 300 轮, 图 3 是深度自编码器的损失函数曲线。

3.2 损伤识别结果

一旦模型训练完成, 则用于重构阈值集和测试集的自相关函数。基于阈值集的损伤识别指标以及单侧置信区间, 可以获取损伤阈值。图 4 是测试集

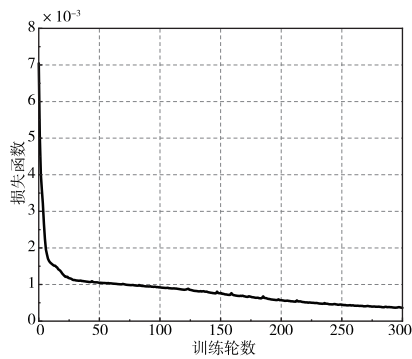


图3 损失函数曲线

的损伤识别结果,图中虚线是损伤阈值,图中一个散点表示测试集中一条加速度的损伤识别指标值,从图中可以看出,无损工况 D0 的散点均在损伤阈值下方,而损伤工况 D1 和 D2 的散点均在损伤阈值上方,且 D2 的损伤指标值均大于 D1 的指标值。这表明本文提出的方法能准确辨识结构的健康状况,并能表征结构的损伤程度。

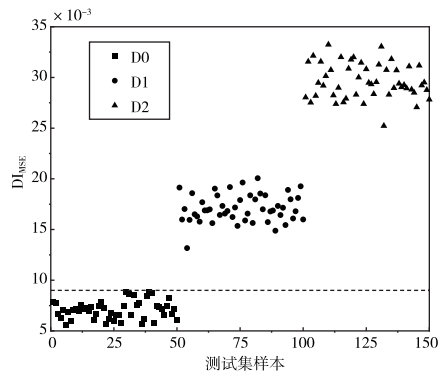


图4 测试集的损伤识别结果

4 结论

由于需要损伤样本作为训练集并且涉及繁琐的数据标记过程,有监督的损伤识别方法在实际应用时存在挑战。为此,本文提出了一种无监督的损伤识别方法。为证明方法的可行性和有效性,对三层框架结构进行了损伤检测研究。结果表明,提出的方法能准确识别结构损伤,克服了有监督方法的局限性。

参考文献【REFERENCES】

- [1] 李慧民,董美美,熊雄,等. 基于振动的结构损伤识别研究综述[J]. 建筑结构,2021,51(4):45-50.
- [2] 刘雄. 基于自注意力的卷积神经网络结构损伤识别[J]. 长江信息通信,2024,37(3):141-143.
- [3] 王慧,王乐,田鑫海. 基于相关函数矩阵及卷积神经网络的结构健康监测研究[J]. 工程力学,2023,40(5):217-227.
- [4] 陈宪麦,李鑫海,徐磊,等. 基于 1D-CNN 的无砟轨道 CA 砂浆脱空识别[J]. 铁道科学与工程学报,2024,21(4):1645-1655.
- [5] 骆勇鹏,王林堃,廖飞宇,等. 基于一维卷积神经网络的结构损伤识别[J]. 地震工程与工程振动,2021,41(4):145-156.

收稿日期:2024-09-15;修回日期:2024-09-15

作者简介:常伟东,男,硕士研究生,助理工程师,主要从事模态分析与道路桥梁施工研究。