



· 综述 ·

中药鉴定学新技术新方法研究进展

陈士林^{1*}, 郭宝林¹, 张贵君², 严铸云³, 罗光明⁴, 孙素琴⁵,
吴和珍⁶, 黄林芳¹, 庞晓慧¹, 陈建波⁵

(1. 中国医学科学院 北京协和医学院 药用植物研究所 中草药物质基础与资源利用
教育部重点实验室, 北京 100193;

2. 北京中医药大学 中药学院, 北京 100102; 3. 成都中医药大学 药学院, 四川 成都 611137;

4. 江西中医学院, 江西 南昌 330004; 5. 清华大学 化学系, 北京 100084;

6. 湖北中医药大学, 湖北 武汉 430065)

[摘要] 作者对近20年中药鉴定学研究和应用的新技术、新方法进行了综述,介绍和评述了每种技术或方法的原理、特点、应用实例及发展方向,探讨了现有新技术在鉴定中的客观性和准确性。DNA条形码技术鉴定能力较强,在鉴定没有背景信息的中药样品及在方法通用性和可数字化方面具有优势,应用前景广阔。光谱鉴定具有指纹特征性,在中药材及饮片的质量管理和鉴定中具有一定的实用性。显微鉴定新技术、色谱鉴定、特定引物PCR标记鉴定、生物效应鉴定、DNA芯片以及仿生技术等其他技术在特定中药鉴定中将发挥重要作用。

[关键词] 中药鉴定;分子鉴定;化学鉴定;性状鉴定;显微鉴定

中药材是中药饮片、中药提取物和中成药的原料,它的前端是药用植物、药用动物、药用矿物及其特定的药用部位,或者称为中药材的基原。中药鉴定学研究的主要内容为中药材及其基原的鉴定,包括鉴定方法和鉴定标准,有些鉴定方法可以沿用到饮片、提取物和中成药。中药材的准确鉴定是中医药事业运行和发展的基本环节,一直备受关注。国家药品标准对中药材的基原、鉴定方法和质量标准进行了规定,要求基原须准确无误,鉴定方法要实用有效,标准正确合理^[1]。对于常用中药材的基原问题,科学家通过本草考证、产地、市场和临床用药情况调查,并主要依据分类学研究将来物种确认(矿物药主要依据矿物学),限定了药用部位,基本澄清了混乱,据此建立了国家相关药材标准。然而,药材市场处于动态变化中,基原变化和新的药材类型(如栽培品、进口品种、新的中药材品种等)不断出现,鉴定研究工作仍不能松懈。此外,我国民族药基原混乱问题至今仍未全面解决,需要重视。

随着人类对天然药物的认识和利用,形成了药物鉴定知识。中药材鉴定方法的发展则与中医药的发展同步,体现在历代医药学典籍中。西方生药学鉴定方法于1930年引入中

国,形成了中药鉴定学的基原、形态、显微和理化四大鉴定方法体系。而后我国在显微鉴定方法中创新性地应用了粉末鉴定,目前薄层方法已成为理化方法的主流^[2]。中药材鉴定是依据能够良好表征药材特殊性或特征性的性状,以有效而准确地区别药材,特别是易混品和伪品。因此,方法的有效性、准确性、便捷性和实用性是鉴定的新目标,而新技术、新方法、新的特征类型的引进和应用则是实现上述目标的重要途径,最终实现鉴定方法的客观化、数字化和网络化。

本文对近20年发展起来的中药鉴定学新技术和新方法进行了综述和总结。对各类技术、方法进行了介绍和评述,并对其发展方向进行了展望。

1 分子鉴定技术

中药分子鉴定一般是指依据大分子(核酸和蛋白质)特征的鉴定。按鉴定特征可分为核酸分子鉴定和蛋白质分子鉴定两大类,由于中药样品的特殊性,核酸分子鉴定主要集中于DNA分子鉴定^[3]。

1.1 DNA分子鉴定

传统鉴定方法主要依据性状特征差异进行鉴定,而DNA分子鉴定技术则依靠反映生物个体、居群或物种基因组中具有差异特征的DNA片段来鉴定,不受环境修饰影响及经验的限制,在中药材品种鉴定上具有一定优越性。

分子生物学技术的迅猛发展促进了DNA分子标记鉴定技术的诞生、发展和在中药鉴定中的应用。中药DNA分子鉴定经历了以RFLP、RAPD和DNA barcoding技术为代表的

[稿件编号] 20120116004

[基金项目] 国家自然科学基金重点项目(81130069);卫生行业科研专项项目(200802043)

[通信作者] *陈士林,博士生导师,从事中药资源学研究, Tel: (010)62899700, E-mail: slchen@implad.ac.cn



3个阶段,形成了基于分子杂交信号、PCR扩增指纹、核酸序列分析的三大DNA鉴定技术体系^[3]。基于序列分析的DNA条形码技术是目前影响较大、应用较广泛的DNA鉴定技术。

1.1.1 DNA条形码鉴定技术 DNA条形码是指利用基因组中一段公认标准的、相对较短的DNA片段作为物种标记而建立的一种新的生物鉴定方法,由加拿大分类学家Paul Hebert于2003年首次提出^[4]。该方法通过筛选确定通用条形码,建立条形码数据库和鉴定平台,通过生物信息学分析方法分析比对DNA数据,进而对物种进行鉴定。DNA条形码鉴定快速准确、有望实现自动鉴定,是传统生物鉴定方法的有效补充,因而受到了国内外学者的广泛关注,目前已成为物种鉴定和分类的研究热点^[5-7]。与其他分子鉴定方法相比,DNA条形码鉴定具有三大优势:鉴定结果可重复性好;方法通用性强;可构建统一数据库和鉴定平台,易于推广和标准化。

近年来,中药DNA条形码鉴定研究得到快速发展。中国学者通过大样本量系统研究,于2010年提出将ITS2作为药用植物标准DNA条形码,*psbA-trnH*作为ITS2的补充序列^[8]。同时,通过对GenBank数据库中所有植物和动物ITS2序列的分析,发现ITS2不仅对植物具有较高的鉴定效率,对动物的鉴定成功率也高达91.7%,进而建议ITS2可作为动物通用条形码COI的补充序列^[9]。目前,ITS2已成功应用于豆科等多个科属药用植物及药材鉴定^[10-15]。*psbA-trnH*序列也在石斛属等药用植物鉴定中得到了较好应用^[16-24]。鉴于以上研究成果,陈士林等^[25]建立了以ITS2为核心、*psbA-trnH*为补充序列的植物类药材DNA条形码鉴定体系和以COI序列为核心、ITS2为辅助序列的动物类药材DNA条形码鉴定体系,并编著《中药DNA条形码分子鉴定》一书。同时,为加快中药DNA条形码研究和应用步伐,中国医学科学院药用植物研究所建立了药用植物DNA条形码数据库,数据库网址为<http://its2-plantidit.dnسالias.org/>和<http://psbA-trnH-plantidit.dnسالias.org/>。随着数据库的充实和扩大,相信在不久的将来,便可通过数据库对中药材进行快速检索和鉴定,应用前景广阔。

1.1.2 基于PCR的分子鉴定技术 随机和简单限定引物的PCR标记技术:该类技术不需要知道研究对象的DNA信息,采用随机引物对模板DNA进行扩增,如RAPD(random amplified polymorphism DNA),AP-PCR等;或对引物进行简单限定,如AFLP(amplified fragments length polymorphism)^[26],ISSR(inter-simple sequence repeat),DALP(direct amplification of length polymorphism),SRAP(sequence related amplified polymorphism),TRAP(target region amplified polymorphism)等^[3]。目前主要用于生物遗传关系和多样性分析^[27-28]。在中药鉴别方面也有一些报道,如PC Shaw等利用RAPD技术进行了人参、西洋参、三七及其混伪品的鉴别研究^[29]。该类标记技术可通过特异条带法和聚类分析法来实现中药材的鉴定,但

方法的稳定性和可重复性需要提高。引物进行简单限定进行扩增的方法要随行实验和比较,通用性差。因此,该方法较难满足良好的鉴定要求。

特定引物的PCR标记技术:该类方法需要事先知道研究对象的DNA序列信息。如SCAR(sequencing characterized amplified region,)是根据RAPD,AFLP,ISSR等方法得到的差异条带,进行测序,设计引物,获得特异鉴别条带。SSR(simple sequence repeat)是依据已知研究对象简单重复序列类型以及两侧序列,用两侧序列作为引物,扩增其重复序列,根据不同对象的重复次数不同获得不同长度的条带进行鉴定。杨维泽等对dbEST数据库中人参属植物人参、西洋参和三七的EST序列进行搜索和SSR引物设计,能有效扩增三七的SSR序列^[30];丹参也有相关的研究报道^[31]。位点特异性PCR鉴定(allele-specific diagnostic PCR)是对已知待鉴别中药与混伪品基因序列进行比对分析,确定正品的特异性变异位点,引物设计时将该位点互补碱基设计在引物3'端最末端(或在靠近3'端的2~6个碱基引入变异碱基,增强扩增的特异性),正品可扩增出含有特异性突变位点的基因扩增片段,混伪品没有,从而实现中药材的真伪鉴别。该技术在石斛^[32]、鳖甲^[33]、紫苏^[34]等中药材品种的鉴别中得到了广泛应用,2010年版《中国药典》中也收录本方法为蕲蛇和乌梢蛇的分子鉴定方法。

1.1.3 基于分子杂交的DNA分子技术 RFLP(restriction fragment length polymorphisms)是依据序列差异并产生特定的限制性内切酶酶切位点,从而导致酶切片段长度的变化或片段数量的增减,进行鉴定。该项技术首次应用到北沙参基原植物珊瑚菜*Glehnia littoralis*不同居群的鉴别^[35],随后应用到柴胡^[36]等药材或其基原植物的鉴别中。因该方法所需DNA的量较大,对DNA的质量要求较高,限制了其广泛应用。在保留酶切方法,简化杂交技术的基础上建立了PCR-RFLP(PCR-restriction fragment length polymorphism)技术。目前已有灵芝^[37]、绞股蓝^[38]等药材的PCR-RFLP鉴别方法。

DNA微阵列(DNA芯片)是将不同中药的特异性基因片段作为探针,固定在支持物上制成芯片,通过待测药材的DNA与基因芯片上的基因片段发生互补结合,从而实现该中药的鉴定。Caries等^[39]利用基因芯片对几种有毒中药进行了鉴别,蔡佩欣^[40]将不同种属多态性片段的特异性寡核苷酸探针制成芯片,建立了贝母类药材基因芯片检测方法;Yan-Bo Zhang等^[41]建立了16个不同种属石斛的检测基因芯片,有效检测出《中国药典》收录的5种石斛,并能检测复方中的金钗石斛。DNA芯片技术具有高效、快速、准确的优势,但由于芯片制作、检测仪器设备较昂贵,过程复杂。因此在中药材的鉴别应用受限。

1.2 蛋白质标记技术

1.2.1 抗血清鉴别技术 抗血清鉴别技术是利用中药含有的抗原性物质,如蛋白质、多糖等物质,制备特异性的抗体,



采用免疫酶联吸附法(ELISA)或抗体酶免疫试验(SAEIA)等免疫学测定方法鉴别中药。Kitagawa Tsunehiro等采用SAEIA法对半夏、茯苓等进行了鉴别^[42],阿胶及其代用品也采用抗血清鉴别技术鉴别^[43]。

1.2.2 蛋白质电泳鉴别 利用中药中所含蛋白质分子大小、形状或所带电荷差异,通过电泳分离而鉴别中药的方法,常见有聚丙烯酰胺凝胶电泳(polyacrylamide gel electrophoresis, PAGE)和毛细管电泳(capillary electrophoresis, CE)。前者有用于一些果实种子、动物类药材鉴别的实例^[44-45]。后者近年来在中药的鉴别研究中报道较多^[46-47]。

1.2.3 同工酶鉴别技术 同工酶鉴别技术是基于待鉴定中药的同工酶(isozyme)分子结构、活性和免疫原性等方面的特异性,采用酶活性分析和电泳检测的技术,鉴定不同中药品种的方法。李明利用植物鲜叶中的过氧化物同工酶,成功鉴别了当归及其混伪品欧当归、独活^[48]。也有报道用同工酶鉴别藤茎类药材^[49]。

1.2.4 蛋白飞行时间质谱鉴定技术 蛋白飞行时间质谱鉴定技术是利用飞行时间质谱、荧光标记技术,对中药所含肽和蛋白质种类和组成进行分析,从而鉴定不同中药材的一种鉴定技术。王若光等用商品蛋白芯片结合飞行时间质谱的方法,建立了地龙^[50]、羚羊角^[51]等动物类中药蛋白质/肽成分质量指纹图谱的鉴别方法。

1.3 发展方向

经过20多年的研究和探索,分子鉴定技术在中药基原植物和药材鉴定方面取得了突出成绩。DNA条形码技术为分子鉴定技术的新方向,在中药鉴定中已经表现出巨大的应用潜力,有望实现中药鉴定标准化和数字化。随着中药DNA条形码鉴定研究的不断深入,以下几方面将逐渐成为今后研究的热点:中药材DNA提取试剂盒以及PCR扩增试剂盒的研发;制定中药材DNA条形码鉴定的技术标准,完善条形码数据库和鉴定平台;建立DNA条形码转换为二维码的技术标准,并将其推广应用到中药生产、流通和药品监管等领域。当然,由于中药品种复杂多样,其他分子鉴定方法,如蛋白鉴定方法、基因芯片、特异引物PCR鉴定技术等,也将在中药材鉴定中发挥重要作用。

2 化学鉴定技术

中药化学鉴定的物质基础是其所含的化学成分组。中药材所含成分复杂多样,化学鉴定通常选择少数具特征的化学成分,或者以化学成分的整体构成特点作为鉴定依据。早期的中药理化鉴定多依据一类成分具有的化学特性,如特定的显色反应等。TLC方法采用对照品、对照药材或对照提取物进行随行对照鉴定,得到应用和普及。随着色谱分离、分析技术的发展,HPLC, GC, HPCE等方法及与光谱联用技术的发展,可更精细和准确地反映中药材化学组分数和量等特征,成为中药材鉴定和质量控制的有效方法。而以混合组分整体特征分析见长的光谱技术,如红外光谱、X-衍射光谱、紫

外光谱、荧光光谱、拉曼光谱等技术在中药材鉴定中也显露出其独特的优势。

中药材所含化学成分复杂,有些相似来源药材的光谱或色谱等化学指纹图谱差异很小,不易直接观察。因此,需要借助化学计量学技术,对大量样本的化学指纹图谱进行统计分析,寻找出相似药材之间微小但是有规律的特定差异。主成分分析, SIMCA, PLS-DA, 支持向量机、人工神经网络等多种模式识别方法均可用于中药材化学指纹图谱的分析,从而建立客观准确的药材鉴定方法。

2.1 光谱鉴定技术

2.1.1 中红外光谱鉴定技术 红外光谱按照波长范围的不同可分为中红外光谱(MIR)、近红外光谱(NIR)和远红外光谱(FIR),尤以中红外光谱技术最为成熟、应用最为广泛,是目前公认的化合物“指纹光谱”技术,也是各国药典普遍规定化合物鉴别的关键方法。红外光谱仪器技术和化学计量学方法促进了中红外光谱在复杂混合物鉴定和质量研究中的应用,中药材鉴定即是其中重要的应用领域。

红外光谱具有极强的指纹特征性。混合物的红外光谱为其所含成分的光谱特征叠加,混合物所含组分种类越多,其红外光谱上各种谱峰的叠加就会越严重,导致不同混合物的鉴别变得困难。在混合物红外光谱的解析过程中,会遇到与纯化合物红外光谱解析不同的难题。针对混合物红外光谱解析的目的与难题,孙素琴等^[52-58]根据混合物红外光谱宏观指纹特征,建立了中药材“红外光谱三级鉴别法”,利用红外光谱、二阶导数红外光谱和二维相关红外光谱增强药材光谱特征,根据叠加峰进行成分解析,借助化学计量学统计方法进行鉴定识别。该方法不仅可以准确鉴定不同的中药材(不同来源和正伪品),还能实现不同生长环境、采收时间、加工处理药材等的鉴定。

中红外光谱用于中药材鉴定有着诸多优势:反映样品的整体化学信息;多种附件技术的使用,可以实现各种形态样品的快速、无损检测,而且样品可无需分离提取等预处理过程;与化学计量学结合,可在快速检测的基础上,实现快速鉴定;仪器通用,操作简便,成本低,无污染。重复性好,可建立统一规格的化学图谱库,用于检索和实现网络在线鉴定。但使用图谱库进行鉴定具有一定的局限性,一方面,不同的采收、加工、处理等可能较大影响药材总体成分变化,另一方面很多近缘物种可能在图谱总体特征上变化较小,因此图谱库需要尽可能涵盖药材各种成分变化的样品谱图,也需要根据药材具体情况,采用二阶导数光谱、二维相关图谱、制备提取物图谱或摘选特异区段比较等方法进行进一步鉴定。

中红外光谱已大量应用到中药材和中药饮片的鉴定中,孙素琴等测试了200多种对照药材的红外光谱、二阶导数红外光谱和二维相关红外光谱^[55]。刘军等^[59]使用中红外光谱法建立八角茴香及其伪品莽草和红茴香的鉴别方法。周群等^[60]也使用中红外光谱与二维相关光谱鉴别了药用西宁大



黄与伪品华北大黄。此外,红外光谱三级鉴别法还成功用于人参^[61]、阿胶^[62]、淫羊藿^[63]等多种中药材的鉴定。

2.1.2 近红外和拉曼光谱鉴定技术 近红外光谱法也可用于中药材鉴别。由于存在谱图影响因素多、背景复杂、谱峰重叠等限制,近红外光谱的谱图差异不仅源于化学成分的不同,也可能源于粒度、密度等物理因素的变化。因此,样本间化学差异较小时,近红外光谱主要用于物理性质一致的大量样本的统计分析,例如不同产地相同物种药材的识别以及药材中常量成分的定量分析,而在不同物种中药材鉴定方面应用较少。刘浩等^[64]使用二维相关近红外光谱鉴别了香加皮和五加皮,沈海龙等^[65]利用近红外漫反射光谱法鉴别了地骨皮和伪品茎皮、大青根皮。

拉曼光谱也是一种分子振动光谱,可以用于中药材的鉴定,所提供的信息与中红外光谱具有互补性。若中药材含有可产生荧光的成分,可能导致无法观察到药材的拉曼信号,因此需要使用波长较长的激发光源(如波长为1 064 nm的Nd:YAG激光)。孙素琴等^[66]首次使用傅里叶变换拉曼光谱仪直接测定了党参、茯苓、山药等23种植物药材。刘蓬勃等^[67]使用傅里叶变换拉曼光谱成功鉴别了八角茴香及其伪品莽草和茴香。

2.1.3 X-射线衍射图谱鉴定技术 X-射线衍射图谱为X-射线受到原子核外电子的散射而发生的衍射,而不同原子排列的晶体会产生特定的衍射图像(图谱),一般用于推测晶体结构。中药材的X-衍射图谱应为其所含各种成分中所有原子的衍射图谱叠加后构成的特征图谱。由衍射图形成衍射峰值构成,具有指纹性,可用于中药材的鉴定。中药材衍射图谱由弥散峰(所含的大量淀粉,多糖,纤维,蛋白等大分子成分产生)和晶体物质锐峰(如草酸钙、蔗糖等个别晶态物质)两类峰叠加而成。

X-射线衍射首次于1997年运用于中药材的鉴定^[68],其后进行了植物、动物和矿物多种药材的鉴定研究。比较而言,鉴定效果较好的是矿物类中药,如含钙类矿物药的鉴定^[69]、珍珠粉和贝壳粉的鉴定^[70]等;植物药次之,如中药蛇床子^[71]等;全动物体类药的特征性稍差^[72]。

2.1.4 其他光谱鉴定技术 紫外-可见吸收光谱是一种常见的光谱分析方法。使用紫外光谱对中药材进行测试时,需要先用一定的溶剂对药材进行提取。中药材成分复杂,单一溶剂提取物很难反映药材的整体化学成分,也不易鉴别不同物种的药材。因此,袁久荣^[73]提出了“中药鉴别紫外光谱谱线组法”:分别使用石油醚、氯仿、乙醇和水4种极性不同的溶剂对中药材进行提取,将这4种溶剂提取物的紫外光谱作为该药材的鉴别特征。然而药材提取物的紫外光谱往往存在吸收峰较宽、重叠严重等问题,袁久荣等^[74]进一步提出了“中药鉴别导数紫外光谱谱线组法”,通过导数光谱可增强谱图特征性。

紫外灯照射下的荧光性质也可鉴别不同物种的药材^[75],但该方法主观性强、特征性差。采用三维荧光光谱可提供药材成分的更多信息,便于寻找不同物种药材的差异。魏永巨等^[76-77]使用三维荧光光谱分别鉴别了白花前胡与紫花前胡、山豆根与北豆根。

核磁共振谱、太赫兹光谱等其他光谱和波谱方法也用于中药材的鉴别研究。秦海林等^[78-79]使用核磁共振氢谱对天麻、黄连等药材进行了鉴别。陈艳江等^[80]使用太赫兹光谱和支持向量机方法对炙甘草和生甘草、南柴胡和北柴胡、山豆根和北豆根进行了鉴别。但是受到仪器成本等方面的限制,这些方法的推广普及有一定的难度。

2.1.5 光谱鉴定技术的发展方向 紫外光谱、荧光光谱和核磁共振谱的测试常需对药材进行提取分离处理,而红外光谱和拉曼光谱可直接测试药材,拉曼光谱和近红外光谱对未经预处理的样品不需与仪器本身接触也可测试,还可通过光纤等方式进行原位在线检测。因受到荧光背景的干扰,很多中药材的拉曼光谱特征性较差,使其应用到中药材鉴定受限。近红外光谱技术适宜于物化性质近似的大量样本的统计分析,中红外光谱既可进行中药材定性鉴别又可以进行常量成分定量分析,样本数量可多可少,样本成分差异可大可小。中药材中红外光谱鉴定技术的未来方向是:建立大样本量的光谱数据库,建立各类和各种中药材的中红外光谱快速鉴定平台;研究建立企业、行业和国家标准等多级鉴定标准;将中药材性状鉴别与红外光谱分析相结合,找出中药材性状特征与红外光谱特征的关系,对中药材进行更全面的鉴别。

2.2 色谱鉴定技术
色谱技术是中药化学成分分离分析及中药质量评价和控制的核心技术,其中薄层色谱最早应用于中药的理化鉴定,目前HPLC为代表的高效色谱技术逐渐成为中药鉴定主要技术,其他还有气相色谱法(GC)和高效毛细管电泳(HPCE)等。
高效色谱鉴定技术应用于中药材鉴定源于“指纹图谱”概念,也即色谱技术对中药所含化合物进行分离和检测,得到表征各类成分的系列色谱峰,通过色谱峰的数目、峰位和峰高度的特异性构建特定化学指纹图谱,该指纹图谱反映出研究对象的精细化学构成特征,可用于中药的鉴定。理论上不同物种具有不同的化学色谱指纹,但生物的代谢产物受环境、生长发育阶段、不同生物部位等因素的影响较大,同时色谱技术本身的分离和侦测能力和限制,以及样品前处理的影响,导致有时同一物种的药材指纹图谱差别较大。因此,指纹图谱用于中药鉴定时需大样本总结物种的共性特征,不同的中药材品种鉴定标准会有一些的差异。

2.2.1 HPLC 鉴定技术 HPLC以液体为流动相,采用高压输液系统,将不同极性流动相泵入装有固定相的色谱柱,在柱内各成分被分离后,进入检测器进行检测。利用梯度洗脱技术可将药材中的各类成分分离结果表征在一张色谱图上。不同的色谱柱(固定相)、流动相和色谱系统对化合物的分离



程度产生一定的影响,获得的色谱指纹具有某些差异;不同的检测器和检测参数也产生不同的指纹图谱。

HPLC 色谱鉴定技术用于中药材鉴定的优点是具有高效的分离能力,可精细和准确地表征中药材小分子化学成分的数量特征。利用不同溶剂不同提取分离分析方法不但能消除复杂背景的干扰,而且可将微量成分富集并进行表征。利用不同的色谱柱和流动相及不同的检测系统,可以获得中药材中多种多类化学特征指纹。表征有效成分或活性成分 HPLC 色谱特征可与中药材的功效建立关系。

缺点是色谱指纹在种内的多变性,色谱指纹图谱提供的化学信息比较精细,不同中药材的鉴定特征提取和鉴定标准建立需要较大的样本量;每种中药的鉴定包括了特定的固定相、流动相和检测方法的特定组合,鉴定方法上通用性较差;色谱指纹图谱随色谱柱的品牌型号、色谱仪器等影响稍有变化。

HPLC 指纹图谱用于中药材和中药饮片的鉴定取得了可喜的成绩。翟为民等^[81]用 HPLC 指纹图谱鉴别了人参、西洋参和三七。陈胡兰等^[82]对市场上 38 批地丁类药材的鉴别研究,表明紫花地丁与其混淆品苦地丁的 HPLC 指纹图谱差异大,易区别。张张建等^[83]证实密花石斛、马鞭石斛、短棒石斛、鼓槌石斛和金钗石斛的 HPLC-UV 指纹图谱有显著的差异。裴利宽等^[84]研究了淫羊藿物种的黄酮类 HPLC 指纹图谱,表明朝鲜淫羊藿、心叶淫羊藿、粗毛淫羊藿、巫山淫羊藿的大部分样品具有可资鉴别的 HPLC 指纹图谱特征,可用于淫羊藿药材的鉴别。

2.2.2 GC 鉴定技术 GC 主要是根据不同化合物在固定相和气体流动相之间的分配不同进行分离分析的手段,适用于气体、挥发性和半挥发性液体以及能够产生足够蒸气压固体的分析^[85]。程序升温分析方法可以获得更为详尽的成分信息,用于鉴定的 GC 指纹图大多是通过程序升温方法获得。

GC 指纹鉴定是针对中药中可挥发性且热稳定性的药材化学成分,因此是 HPLC 指纹的有效补充。

GC 从 20 世纪 80 年代初就用于中药品种鉴别。如金海燕等^[86]建立了羌活、独活的 GC 指纹图谱,研究发现羌活、独活 GC 指纹图谱存在显著差异,只需计算未知供试品与所建立共有模式间的相似度即可鉴别两者。张广春等^[87]通过西红花及其伪品的 GC 色谱行为分析,发现所有西红花都含有 3 个特征峰群,而伪品均不含有该 3 个特征峰群,藉以快速鉴别真品与伪品。

2.2.3 HPCE 鉴定技术 HPCE 是以高压电场为驱动力,以毛细管为分离通道,依据样品中各组分之间淌度和分配行为上的差异而实现分离分析的液相分析方法。HPCE 易于选择各种分离性的添加剂,具有分析效率高、扩散系数小和样品量小等优点^[88],可分离蛋白质、多肽等大分子成分,也可以分离小分子成分,特别适合有机酸、生物碱等带电荷物质^[89]。

HPCE 适用于中药的水溶性成分以及蛋白等大分子成分,也可以成为 HPLC 指纹的有效补充,但 HPCE 方法的重复性较色谱差。

HPCE 已在中药鉴定中的应用如侯连兵等^[90]对三七及其混淆品菊叶三七的蛋白多肽进行了 HPCE 法的鉴别,在酸性、碱性和中性提取液中三七及其混淆品都存在明显差异。孙毓庆等^[91]研究了冬虫夏草与蛹虫草、人工蛹虫草、亚香棒草的以 HPCE 指纹图谱,发现它们存在明显区别,可鉴别伪品及次品。曾艳萍等^[92]研究了常用中草药沙苑子的 HPCE 指纹图谱,发现正品沙苑子相似度良好,但与草沙苑的指纹图谱在峰数目、峰位、积分值等特征上有显著差异。

此外 UPLC 采用 1.7 μm 颗粒度的色谱柱填料,与 HPLC 相比,提高了柱效、流速、分析时间、峰容量和灵敏度。叶文文等^[93]建立了白术的 UPLC 指纹图谱,在 22 min 内标记了 32 个峰,样品成分整体分离度良好,建立的共有指纹图谱模式可有效鉴别白术的真伪。

2.3 色谱-光谱联用鉴定技术

色谱-光谱联用鉴定技术是具高效分离性能的色谱技术与能获取化学成分丰富结构信息的光谱技术相结合形成的系列中药鉴定技术^[94]。主要有高效液相色谱-质谱(HPLC-MS)、气相色谱-质谱(GC-MS)、红外光谱-质谱(IR-MS)、质谱-质谱(MS-MS)、气相色谱-付里叶变换红外光谱(GC-FT-IR)、高效毛细管电泳-质谱(HPCE-MS)等。其中应用最广泛的是 HPLC-MS。

2.3.1 HPLC-MS 鉴定技术 HPLC-MS 联用技术,利用质谱进行成分的检测和解析,提高了传统检测器灵敏度和选择性,可对中药样本中未知化学成分进行定性、初步确定未知化学成分的化学结构^[95]。

HPLC-MS 与 HPLC 相比具有适合检测分离后容易发生变化和损坏的样品或者不易分离的样品;检测灵敏度提高;分析色谱峰所代表的化学成分结构信息,使得鉴定信息具体和准确等优点。

孙萍等^[96]应用 LC-MS 对木通、川木通和关木通化学成分的分析,表明木通与川木通含有较多相似成分,3 种药材的 MS 基峰离子存在显著差异,据此可鉴别 3 种木通。Min Ye 等^[97]对 2 种菟丝子进行了 LC-MS 分析,鉴定出 50 个成分,南方菟丝子主要含山柰酚及紫云英苷,而菟丝子主要含金丝桃苷,其他酚性成分亦存在显著差异;根据化学成分差异可以鉴别菟丝子的不同品种。胡岩等^[98]采用该法获得了八角科 17 个种 22 个果皮样品的倍半萜内酯特征成分的总离子流图和质谱图,能够很好地表征八角科植物果皮中倍半萜内酯成分的特点,色谱图特征可有效鉴别原药材或药材粉末。

2.3.2 其他色谱-光谱联用技术 GC-MS 是目前分析和鉴别具有挥发性、半挥发性成分中药的首选技术。如 Ruijing Pan 等^[99]采用 GC-MS 结合指纹图谱以及化学计量学方法分别鉴定了半枝莲、耳草与半边莲中的 50,36,38 个成分,利用



色谱相似度及主成分分析可准确鉴别半枝莲及其易混品。L F Hu^[100]等采用该方法鉴别了广藿香及其替代品和易混品。

GC-FTIR 联用可分离、鉴定各类复杂混合物,实现中药鉴别。如 Hongbin Zhu 等^[101]采用 GC-FTIR 联用 MS,以 5 省的 11 个马齿苋样品为研究对象,建立其指纹图谱,应用聚类分析可准确鉴别来自中国北方与南方的马齿苋品种。HPCE-MS 联用由于 HPCE 手段本身稳定性与重复性等原因,在中药品种鉴定中应用尚无报道。

2.4 色谱鉴定技术的发展方向

色谱法及色谱-光谱联用法因更为精细准确而具有优于 TLC 的方面,已经展现出巨大的应用潜力。该方法可以同时展现化合物组分数和量的特性,与药材的优劣直接相关,是药材精细鉴定的必要方法,但需基于大量的样本和复杂的方法学考察,也可建立部分样本的数据库。目前的研究应用报道尚未重复体现色谱鉴定技术本身的准确性和实用性,需加大研究力度,可以和光谱鉴定技术结合,遵循“从整体到部分,先定性后定量”的原则,建立以基于光谱指纹图谱的整体鉴别为主,以某些特定成分的定性定量检测为辅的技术方法体系。

3 性状显微鉴定新技术

生物的性状特征(形、色、气、味)是遗传的表现形式,常具有物种的特异性,可以用于中药物种的鉴定,但也受环境的影响,表现出一定的变异性,因此发掘和确定出有效的中药材鉴别性状特征一直随着技术的进步在不断发展。中药材性状鉴别经过我国历代医药工作者不断的积累和总结,形成了丰富的鉴别经验和方法,这些方法在今天甚至在以后相当长的一段时间内,仍不失为实用、快捷、有效的中药材鉴定方法。

细胞的生物学地位确定后,显微镜逐渐成为植物药鉴别的重要手段。近代开始用生药学的方法研究中药材的鉴定,显微鉴定的方法和技术作为中药鉴定研究的主要内容,《中国药典》1977 年版开始收载显微鉴别内容。随着显微技术、计算机技术和仿生技术等的发展,电子显微镜鉴定、三维图像鉴定、仿生识别等方法相继应用到中药材的鉴别之中。

3.1 仿生识别鉴定

仿生识别是模仿动物的某一功能,把被认识的一个个事物转化为一组数,对应为某特定高维空间的一些点,然后用高维空间几何方法来计算这些点的位置关系,并加以对同一类事物分布点的几何计算分析和最佳化点覆盖识别。中药材传统的感官鉴定,经验和主观性强,难以客观化和标准化界定。现有的仿生识别技术可弥补这方面的不足。

3.1.1 嗅觉仿生(电子鼻) 嗅觉仿生技术是动物嗅觉系统研究成果、传感器技术与电子学和计算机技术结合的产物,模仿人类后脑部嗅上皮细胞的工作模式,实现对气味的检测。

电子鼻包含一组化学传感器阵列,被封装在密闭容器中。目标混合物,以气态形式进入到密闭容器中,气体和传感器之间的反应引起传感器电导率变化。每一个传感器与部分成分以独特的方式进行响应。在阵列中,每一个传感器有不同的特性(如涂层、工作温度等)。因此,阵列中各传感器的不同电响应(即电压输出)联合输出形成一个指纹图谱(标记)图,对于特定的气味是独一无二的。根据指纹(标记)图利用一定的模式识别算法即可识别出不同的气味成分^[102]。

中药材气味的香臭浓淡,是传统鉴别的重要依据。日本学者御影雅幸^[103]利用气味传感器成功地区分了茯苓、牡蛎、龙骨粉末。刘红秀等^[104]区别了八角、白豆蔻、川芎、丁香、荆芥、肉桂和砂仁等药材,王蔚昕^[105]对防风类(防风、云防风、甘肃小防风、河南水防风)、柴胡类(北柴胡、小叶黑柴胡、阿尔泰柴胡、三岛柴胡、海拉尔柴胡)、人参与西洋参、当归(甘肃、云南产区)和掺伪药材粉末组(西洋参与人参混合粉末)进行了鉴别。

3.1.2 味觉仿生(电子舌) 味觉仿生技术是模仿人类味觉细胞和受体传感的工作模式,实现对液体“味道”的检测。

电子舌采用类似于生物系统的材料作传感器的敏感膜,当类脂薄膜的一侧与味觉物质接触时,膜电势发生变化,从而产生响应。传感器阵列中每个独立的传感器仿佛舌面上的味蕾一样,每个独立的传感器感受一类群化学物质^[106]。感受到的不同的化学物质,采集各种不同的信号输入计算机,计算机代替生物系统中的大脑功能,通过软件进行分析处理,从而针对不同的物质进行区分辨识,最后给出各个物质的感官信息。传感器阵列中这种味觉传感器具有高灵敏性、可靠性、重复性,同时可以对一些成分含量进行测量^[106-107]。

中药材味道是传统鉴定的依据。电子舌可对酸、甜、苦、辣、咸 5 种基本味感进行有效的识别,目前该技术在饮料鉴别与区分、酒类(啤酒、清酒、白酒、红酒)区分与品质检测、农产品识别与分级、航天医学检测、制药工艺研究、环境监测等中有较多应用^[108]。但在中药材鉴定方面尚无报道。

3.1.3 视觉仿生 视觉仿生是一种基于仿人眼视觉特性的视觉检测和目标识别体系结构及感知计算模式。1931 年国际照明委员会(CIE)规定了标准观察者的光谱三刺激值(照度、色调、饱和度),使物体颜色的仪器测量成为可能。色差计(color difference meter)是一种光电积分式测色仪器,其利用仪器内部的标准光源照明被测物体,在整个可见光波长范围内进行一次积分测量,得到透射或反射物体色的 3 刺激值和色品坐标,并通过计算机系统给出 2 个被测样品之间的色差值^[109]。

色差计的测量原理采用最广泛使用于测量物体色调的 CIE 1976 L^* , a^* , b^* 色度空间系统。所有的颜色可用 L^* , a^* , b^* 3 个轴的坐标来定义,从而将色调的色度空间转化为



立体的数学模型^[110]。色差计在食品行业的色度评价方面得到了广泛的应用,如蘑菇护色、绿茶品质、芹菜汁绿色稳定性、肉类新鲜度检验、辣椒果实颜色和馒头、面条、面包、面片的颜色评价等领域得到应用^[111]。《中国药典》2000年版始将色差法测定药品溶液颜色收入附录中^[112]。对于中药材鉴定的研究目前集中于中药炮制品的描述判别。如黄学思等^[113]构建了色度空间 L^*, a^*, b^* 的槟榔药材和各种炒制品判断的数学判别模型,其判别符合率为100%,沈昱翔^[114]对19个产地丹参药材的表面和断面颜色进行量化表达分析。

目前,各种仿生识别方法还处于探索阶段,在中药材真伪鉴定和质量检测方面还有很多基础工作需要研究,但显示了较好的应用前景。

3.2 偏光显微镜鉴定技术

偏光显微镜又称偏振光显微镜。在普通光学显微镜中增加偏振装置。偏振光在通过各向同性的物质时呈现暗视野,而各向异性的样品呈现不同的测试片。非均质性的晶体或某些分子排列无序的有机物则会呈现出颜色不同,强弱不一的光彩^[115]。植物类中药材的淀粉粒、结晶体、石细胞等组织细胞内含物在偏光显微镜下色彩呈现稳定特异的变化。如未糊化的淀粉粒显偏光,已糊化的淀粉粒则无偏光现象;淀粉粒的脐点在偏光显微镜下呈现黑十字,不同类型的淀粉粒具有不同的黑十字,草酸钙结晶在偏光显微镜下因不同类型的晶型呈现不同明亮色彩。赵中振等^[116]利用偏光显微镜发现了黄芪的淀粉粒、人参的草酸钙结晶、桃仁的石细胞、山茱萸的导管以及石菖蒲的纤维具有稳定、特异的偏光特征,并利用偏光特征鉴别了含34种药材的中成药至宝三鞭丸。

动物的骨碎片、横纹肌(肌纤维)、及毛茸及骨和齿的磨片在偏光镜检查下,则有强烈的颜色和条纹对比^[117]。如通过偏光显微镜观察,测算麝香药材中掺伪物质的含量^[118]。

偏光显微镜已成为鉴定矿物药的重要手段^[119],如石膏、石英、云母石、寒水石等在暗视野中均会呈现强烈、多色的干涉色带。温海成等^[120]利用偏光显微镜对硅化合物类(玛瑙)、钙化合物类(龙骨)、铁、砷化合物类(磁石、雄黄)、钠盐类(硼砂)、汞化合物类(朱砂)等34种常用矿物药进行了显微鉴定。

3.3 电子显微镜鉴定技术

扫描电镜又称扫描电子显微镜。可获得更为精细的结构特征信息,在药材鉴定方面。最适用观察花粉粒、种皮、果皮的表面饰纹及茎、叶面的表面组织的结构特征(毛、腺体、分泌物、气孔、角质层、蜡质等),组织细胞(管胞、导管、纤维、石细胞)及晶体等后含物、动物药材的体壁、鳞片、毛发等超微结构^[121]。康廷国等^[122]利用扫描电镜对4种洋金花的花粉粒进行观察,发现它们在花粉粒在不规则网状纹理的有无、网状雕纹的大小均有显著区别。但是果皮、叶表皮的纹饰特征常常受环境影响较大,因此特征的应用上应予以注意。

3.4 体视显微镜鉴定技术

体视显微镜放大倍数在5~100倍,它不能穿透物体,但确能更好地观察药材表明纹理、起伏、饰纹和颜色,直接看见原药材的原色和原形,能够观察到许多传统的性状鉴定看不到、显微鉴定又看不清的药材特征信息。1992年,胡东维等^[123]率先利用体视显微镜对十字花科19种植物种皮微形态进行观察。而后韩荣兰、吕洪飞等^[124-125]相继对桑寄生科植物叶表皮、紫茎泽兰茎、叶、花、果实及种子进行了微形态的观察。

3.5 其他方法

中药材的性状鉴定技术发展很快,近几年除电子显微鉴定和仿生技术的应用以外,还有出现了许多方法。如①中药材三维组织结构的重建技术:肖小河等研发出中药形态结构计算机三维重建与实时动态显示技术,将模式识别的原理和模式分类方法引入多目标识别过程,实现了中药形态组织三维动态显示及其形态学参数测定;也将断层图象序列重建三维模型及其表面显示技术成功地应用于中药麦冬、附子的连续切片三维重建与动态显示中,提供了中药鉴定生动和立体的三维图像和技术资料^[126-127]。②中药微性状系统鉴定法:周建理^[128]等利用体视显微镜、生物显微镜和袖珍显微镜等结合适合的电脑软件,观察、拍摄药材表面的细微特征信息,根据药材表面反映出的不同信息特征实现中药材鉴别的方法。③新型微形态特征发掘,如双子叶植物的叶脉特征具有分类学价值^[129],何报作等用该方法进行了鬼针草与易淆品白花鬼针草^[130]的鉴别。可见,发掘药材中微细特征的观察和鉴别也是中药材鉴定技术发展的一个重要方向。

3.6 性状和显微鉴定新技术的发展方向

仿生技术可以对一些传统的中药材特征进行非主观化的快速有效识别,是未来中药鉴定学的重要发展方向,但仪器较为昂贵,还需要做大量的基础工作,如对于电子鼻,由于中药类别多,初始数据庞大,不同类的中药有可能具有相似的气味特征,而对电子鼻的精细训练和建模具有一定的难度等。

其他微形态鉴定技术则是对现有显微特征的充实和丰富,根据不同药材的鉴定需要均可以尝试和开展,以获取鉴定的最有效方法。

4 生物效应鉴定技术

中药生物效应(价)鉴定是定量药理学与中药鉴定学交叉发展的产物。中药生物效应鉴定以生物效应为基础,生物统计为工具,运用特定的实验设计,比较在一定条件下生物体对不同供试品所产生的特定反应(可测定、量化生理指标或生物学特性的变化)来测定中药的生物活性(药效、活力或毒力)具备与否和强度差异,以此作为鉴定中药的依据之一^[131]。

该技术的优点是直接与中药的有效性和安全性相关。缺点是:实验方法专属性强,通用性差;中药生物效应鉴定中的测定模型、指标选择、样品处理、体内体外方法及可能产生的差异、对照品(药材)的指定等关键问题都需要解决。

依据中药药性理论和热力学理论,肖小河等^[132]提出基



于生物热动力表达的中药质量生物效价评价方法。不同中药作用于微生物的生长代谢的热功率谱图和热动力学参数不同可作为中药生物检测的定量指标。以大肠杆菌、金黄色葡萄球菌、痢疾杆菌等细菌为观察对象,研究了不同种质的板蓝根^[133]、不同产地的黄连^[134]对菌株的不同生物热力学表达影响,表明该方法可用于鉴定不同品种、不同产地、不同生长年限的药材等。李会芳等^[135]以小鼠为实验动物,认为致泻效价检测方法可用于大黄的品质评价和质量控制。杨明华等^[136]在大鼠标准子宫模型的基础上,观察益母草和缩宫素的量效关系,建立了益母草生物检定的效应模式。楚笑辉等^[137]针对枸杞子的抗氧化作用,建立了基于清除有机自由基1, 1-二苯基苦基苯肼(DPPH)的枸杞子质量控制方法。《中国药典》(2010年版一部)中,用抗凝血酶活性来评价水蛭药材的有效性,并规定每1g水蛭抗凝血酶活性应不低于16.0 U,柳叶蚂蝗和蚂蝗的活性应不低于3.0 U。

中药生物效应鉴定是以中药有效性为基础,因而中药生物效应鉴定是一种对中药优劣鉴定的最佳方法,对中药真伪鉴定不失为一个良好的补充方法。如《中国药典》2010年版一部中的地黄薄层鉴别,采用1, 1-二苯基苦基苯肼(DPPH)处理过的薄层板,既可有较好的显色效果,又可同时检测供

试品抗氧化的强度。

5 中药鉴定学各方法评价和技术方法体系构建

近年来,应用于中药鉴定的新技术新方法发展迅猛,有望克服四大传统鉴定方法难以解决的问题。然而,任何方法都具有一定的局限性,本文对各种新方法和新技术进行了比较(表1),重点关注以下几个方面:①准确性,重点在于对同属近缘种或混伪品鉴定的有效性;②动物样品适用性,由于传统方法可用的动物类药材特征较少,适用性均不够理想;③方法通用性,对于没有或者较少供试品背景信息的可应用性;④可数字化,可以建立数据库及数据库可检索性;⑤可重复性,结果不受不同型号的仪器、实验条件和操作人影响;⑥样品处理简单性,不需要特殊处理(成分提取、DNA提取等);⑦实用性,实验条件容易达到、可推广。从表1可以看出,现有的新技术、新方法不再依赖于鉴定者的经验,在鉴定的客观性和准确性上有了较大进步。其中,DNA条形码技术鉴定物种能力较强,不仅适用于没有背景信息的生物样品,在方法通用性和可数字化方面也具有较大优势^[138]。光谱鉴定技术具有指纹特征性,在中药材及饮片的质量管理和鉴定中具有一定的实用性。显微鉴定新技术、色谱鉴定、特定引物PCR标记鉴定等其他技术在特定中药鉴定中将发挥重要作用。

表1 中药鉴定学各类新技术新方法比较

Table 1 The comparison of new technologies and methods for identifying traditional Chinese medicinal materials

鉴定方法	原理和特点(优势)	劣势	适用范围	
分子鉴定	DNA条形码鉴定技术	利用少数几个引物扩增生物中的一段序列,通过序列比对进行鉴定;技术通用,适用于任何无背景信息的材料;可以和全球生物DNA条形码数据库整合使用,进行检索和鉴定;适用于药材及基原的任何部位;技术重复性好	提取到合格的DNA是实现鉴定的前提	动物、植物类药材和基原
	特定引物PCR标记技术	用针对特定药材经筛选建立的引物进行特异条带的扩增,通过条带的有无进行鉴定;技术重复性好,鉴定准确	每种药材需要单独建立;提取到合格的DNA是实现鉴定的前提;不适用于无背景信息的药材	动物、植物类药材和基原
	DNA芯片技术	利用一种或一类药材经筛选建立的DNA片段制成的芯片,再将标记过的引物扩增药材中的相应片段,通过杂交信号判读进行鉴定;技术重复性好,鉴定准确	每种(类)药材需要单独建立;需要特别的芯片判读设备,比较昂贵;提取到合格的DNA是实现鉴定的前提	动物、植物类药材和基原
化学鉴定技术	红外光谱鉴定技术	将药材粉末直接进行压片(或者其他检测材料),测定红外光谱图谱,通过图谱比对(大多数时候需要进行化学计量学处理)进行鉴定;技术通用,适用于任何无背景信息的材料;可建立数据库进行检索和鉴定;技术重复性好,鉴定准确;样品处理非常简单;鉴定快速、无损	通过数据库鉴定的准确性依赖于数据库中的数据数量(图谱直接判读鉴定给出的结果有时可能是相似药材,再通过限定比较波数范围、二阶导数谱、二维光谱、或者溶剂提取等方法,实现准确鉴定)	植物类、动物类药材和部分矿物类药材
	X-衍射鉴定技术	将药材粉末直接进行X-衍射分析获得图谱,通过图谱比对进行鉴定;技术通用,适用于任何无背景信息的材料	对植物类药材和动物类药材鉴定准确性有时不理想	各类药材,最适于矿物类药材



续表1

鉴定方法	原理和特点(优势)	劣势	适用范围
色谱鉴定技术	将药材提取物通过色谱的方法分离并获得色谱峰图谱,通过图谱比对进行鉴定;技术重复性较好,鉴定准确	每种(类)药材需要单独建立;一般不适用于无背景信息的药材	主要适合植物类药材
形态鉴定新技术 仿生技术	仪器对药材的感官特征(如颜色、气味、味道)进行提取后通过数据处理和模拟人的感官的方法进行识别和鉴定;沿用药材的传统鉴定特征,并使之客观化	每种(类)药材需要单独建立;识别和鉴定的准确性待进一步研究;大量药材感官特征数据的处理,目前的设备含较难达到;仿生仪器还比较昂贵	各类药材
其他微形态技术	通过一定的仪器获取药材的微形态特征进行鉴定	一般不适用于无背景信息的药材	各类药材
生物效应鉴定技术	通过一定的生物活性效应指标进行鉴定;能够反映药材质量的优劣	少数药材可以获得适合的生物效应鉴定方法;不适用于无背景信息的药材	适用药材种类少

[参考文献]

- [1] 张贵君. 中药鉴定研究方法论[M]. 北京:人民卫生出版社, 2010:1.
- [2] 李家实. 中药鉴定学[M]. 上海:上海科学技术出版社, 2006:1.
- [3] 王川易,郭宝林,肖培根. 中药分子鉴定方法评述[J]. 中国中药杂志,2011,36(3):237.
- [4] Hebert P D N, Cywinska A, Ball S L, et al. Biological identifications through DNA barcodes [J]. Proc R Soc Biol Sci Ser B, 2003, 270: 313.
- [5] Schindel D E, Miller S E. DNA barcoding a useful tool for taxonomists[J]. Nature, 2005, 435:17.
- [6] Miller S E. DNA barcoding and the renaissance of taxonomy[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2007, 104:4775.
- [7] 陈士林,姚辉,宋经元,等. 基于DNA barcoding(条形码)技术的中药材鉴定[J]. 世界科学技术——中医药现代化,2007,9(3):7.
- [8] Chen S L, Yao H, Han J P, et al. Validation of the ITS2 region as a novel DNA barcode for identifying medicinal plant species [J]. PLoS ONE, 2010, 5: e8613.
- [9] Yao H, Song J Y, Liu C, et al. Use of ITS2 region as the universal DNA barcode for plants and animals [J]. PLoS ONE, 2010, 5: e13102.
- [10] 罗焜,陈士林,陈科力,等. 基于芸香科的植物通用DNA条形码研究[J]. 中国科学(C辑):生命科学,2010,40(4):342.
- [11] Pang X H, Song J Y, Zhu Y J, et al. Applying plant DNA barcodes for Rosaceae species identification [J]. Cladistics, 2011, 27: 165.
- [12] Pang X H, Song J Y, Zhu Y J, et al. Using DNA barcoding to identify species within Euphorbiaceae [J]. Planta Med, 2010, 76: 1784.
- [13] Gao T, Yao H, Song J Y, et al. Identification of medicinal plants in the family Fabaceae using a potential DNA barcode ITS2 [J]. J Ethnopharmacol, 2010, 130: 116.
- [14] Gao T, Yao H, Song J Y, et al. Evaluating the feasibility of using candidate DNA barcodes in discriminating species of the large Asteraceae family [J]. BMC Evol Biol, 2010, 10: 324.
- [15] 朱英杰,陈士林,姚辉,等. 重楼属药用植物DNA条形码鉴定研究[J]. 药学学报,2010, 45(3): 376.
- [16] Yao H, Song J Y, Ma X Y, et al. Identification of *Dendrobium* species by a candidate DNA barcode sequence: the chloroplast *psbA-trnH* intergenic region [J]. Planta Med, 2009, 75: 667.
- [17] Han J P, Song J Y, Liu C, et al. Identification of *Cistanche* species (Orobanchaceae) based on sequences of the plastid *psbA-trnH* intergenic region [J]. Acta Pharm Sin, 2010, 45:126.
- [18] Sun Z Y, Gao T, Yao H, et al. Identification of *Lonicera japonica* and its related species using the DNA barcoding method [J]. Planta Med, 2011, 77: 301.
- [19] Ma X Y, Xie C X, Liu C, et al. Species identification of medicinal pteridophytes by a DNA barcode marker, the chloroplast *psbA-trnH* intergenic region [J]. Biol Pharm Bull, 2010, 33: 1919.
- [20] Song J Y, Yao H, Li Y, et al. Authentication of the family Polygonaceae in Chinese Pharmacopoeia by DNA barcoding technique[J]. J Ethnopharmacol, 2009, 124: 434.
- [21] He J, Wong K L, Shaw P C, et al. Identification of the medicinal plants in *Aconitum* L. by DNA barcoding technique[J]. Planta Med, 2010, 76: 1622.
- [22] Zuo Y J, Chen Z J, Kondo K, et al. DNA barcoding of *Panax* species [J]. Planta Med, 2011, 77: 182.
- [23] 刘涛,纪运恒. 葛属药用植物叶绿体上的 *psbA-trnH* 序列分析[J]. 中国农学通报,2009,25(12):46.
- [24] Yang Y, Zhai Y H, Liu T, et al. Detection of *Valeriana jatamansi* as an adulterant of medicinal *Paris* by length variation of chloroplast *psbA-trnH* region[J]. Planta Med, 2011, 77: 87.
- [25] 陈士林,庞晓慧,姚辉,等. 中药DNA条形码鉴定体系及研究方向[J]. 世界科学技术——中医药现代化,2011, 13(5):



- 737.
- [26] John G K Williams, Anne R Kubelik, Kenneth J Livak, et al. DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers[J]. *Nucleic Acids Res*,1990,18(22):6531.
- [27] 陈永久,王文,杨跃雄,等.冬虫夏草(*Cordyceps sinensis*)的随机扩增多态DNA及其遗传分化[J]. *遗传学报*,1997,24(5):410.
- [28] Bi Y H,Hu Y J,Zhou Z G. Genetic variation of *Laminaria japonica* (Phaeophyta) populations in China as revealed by RAPD markers[J]. *Acta Oceanol Sin*,2011,30(2):103.
- [29] Shaw P C,But P P. Authentication of *Panax* species and their adulterants by random-primed polymerase chain reaction [J]. *Planta Med*, 1995,61(5):466.
- [30] 杨泽洋,金航,崔秀明,等.三种人参属植物的EST-SSR信息分析及其在三七中的应用[J]. *基因组学与应用生物学*,2011,30(1):62.
- [31] 宋杰,严铸云,马云桐,等.丹参EST序列中SSR信息的分析及分子标记的建立[J]. *世界科学技术——中医药现代化*,2009,11(1):58.
- [32] Lu S, Ding X Y, Han L, et al. Confirming the genetic identity of *Dendrobium fimbriatum* using an Amplification Refractory Mutation System (ARMS) [J]. *Plant Mol Biol Rep*, 2010, 28(4):712.
- [33] 刘忠权,王义权,周开亚.中药材鳖甲的位点特异性PCR鉴定研究[J]. *中草药*,2001,32(8):736.
- [34] 罗玉明,张卫明,丁小余,等.紫苏属药用植物的rDNA ITS区SNP分子标记与位点特异性PCR鉴别[J]. *药学报*,2006,41(9):840.
- [35] Mizukami H,Ohbayashi K,Umetzu K, et al. Restriction fragment length polymorphisms of medicinal plants and crude drugs. II. Analysis of *Glehnia littoralis* of different geographical origin [J]. *Biol Pharm Bull*,1993,16(6):611.
- [36] Mizukami H, Ohbayashi K, Ohashi H. *Bupleurum falcatum* L. in northern Kyushu and Yamaguchi prefecture are genetically distinguished from other populations, based on DNA fingerprints [J]. *Biol Pharm Bull*,1993,16(7):729.
- [37] Zhou X W, Li Q Z, Yin Y Z, et al. Identification of medical *Ganoderma* species based on PCR with specific primer and PCR-RFLP [J]. *Planta Med*,2008, 74: 197.
- [38] 王翀,张媛媛,杨娟,等.胶股蓝属植物及其混淆品乌蕨莓的PCR-RFLP鉴别研究[J]. *中国中药杂志*,2008,33(19):2167.
- [39] Caries M, Lee T, Moganti S, et al. Chips and Qi: microcomponent-based analysis in traditional Chinese medicine [J]. *Fresenius J Anal Chem*,2001,371(2):190.
- [40] Tsoi P Y, Woo H S, Wong M S, et al. Genotyping and species identification of *Fritillaria* by DNA chips [J]. *Acta Pharm Sin*, 2003,38(3):185.
- [41] Zhang Y B, Wang J, Wang Z T, et al. DNA microarray for identification of the herb of *Dendrobium* species from Chinese medicinal formulations [J]. *Planta Med*,2003,69(12):1172.
- [42] Kitagawa T, Bai G, Fujiwara K, et al. Specificities of five kinds of antisera produced against crude drugs, *Pinellia tuber*, *Hoelen*, *Glycyrrhizae Radix*, *Trichosanthes* root and *Panax ginseng* [J]. *Biol Pharm Bull*,1996,19(3):335.
- [43] 张华远,万宗举,吴冬明,等.阿胶的真伪鉴别与内在质量的研究VI:用免疫化学法鉴别真伪阿胶[J]. *药物分析杂志*,1992,12(3):139.
- [44] 石俊英,李辉,宋广远,等.14种皮类中药的电泳鉴别[J]. *中国中药杂志*,1992,17(2):74.
- [45] 史克莉,陈振江.几种动物类中药材SDS-PAGE的电泳鉴别[J]. *中成药*,2004,26(5):411.
- [46] 应正华,陈露.高效毛细管电泳(HPCE)在中药分析中的应用[J]. *海峡药学*,2011,23(2):1.
- [47] 张朝晖,范国荣,徐国钧,等.12种海马、海龙类药材高效毛细管电泳鉴别[J]. *中国中药杂志*,1998,23(5):259.
- [48] 李明.当归及其混伪品的过氧化物同工酶电泳鉴别[J]. *中药材*,2000,23(4):200.
- [49] 赵华英,陈永林,霍德兰,等.6种茎藤类药材同工酶的电泳分析[J]. *中国中药杂志*,1998,23(9):521.
- [50] 王若光,李春梅,王陆颖,等.基于激光解析/离子化-飞行时间质谱技术的中药地龙蛋白质组分析[J]. *中国组织工程研究与临床康复*,2008,12(13):2489.
- [51] 张焯,王若光,王陆颖,等.以蛋白质芯片为中药蛋白质/肽相互作用载体分析羚羊角的生物学特征[J]. *湖南中医药大学学报*,2009,29(6):15.
- [52] Sun S Q, Zhou Q, Chen J B. Infrared spectroscopy for complex mixtures-applications in food and traditional Chinese medicine [M]. 北京:化学工业出版社,2011.
- [53] 孙素琴,周群,陈建波.中药红外光谱分析与鉴定[M].北京:化学工业出版社,2010.
- [54] Sun S Q, Chen J B, Zhou Q, et al. Application of mid-infrared spectroscopy in the quality control of traditional Chinese medicines [J]. *Planta Med*, 2010, 76:1987.
- [55] 孙素琴,张宣,秦竹,等. FTIR 直接鉴别植物生药材[J]. *光谱学与光谱分析*, 1999, 19: 542.
- [56] 孙素琴,郁鉴源,胡鑫尧.分子光谱法无损鉴别生药材的最新进展[J]. *光谱学与光谱分析*, 1999, 19: 841.
- [57] 孙素琴,周群,郁鉴源,等.分子振动光谱法与中药研究的最新进展[J]. *光谱学与光谱分析*, 2000, 20: 199.
- [58] 孙素琴,周群,秦竹.中药二维相关红外光谱鉴定图集[M].北京:化学工业出版社,2003.
- [59] 刘军,刘蓬勃. NIR FT-Raman 和 FTIR 光谱法无损快速鉴别药材的真伪——八角茴香及其伪品[J]. *现代仪器*,2011(5):19.
- [60] 周群,李静,刘军,等.真伪大黄的二维相关红外光谱[J]. *分析化学*, 2003, 31: 1058.
- [61] 周容,周群,孙素琴.人参及其伪品北沙参、桔梗和峨参的红外“指纹”特征[J]. *现代仪器*,2003(4):27.
- [62] 许长华,周群,孙素琴,等.二维相关红外光谱法与阿胶的真伪鉴别[J]. *分析化学*,2005,33:221.
- [63] 裴利宽,郭宝林,孙素琴,等.淫羊藿药材一些混淆物种的



- FTIR 鉴别研究[J]. 光谱学与光谱分析, 2008, 28: 55.
- [64] 刘浩, 相秉仁, 屈凌波, 等. 香加皮和五加皮的二维相关近红外光谱快速无损鉴别[J]. 中国药科大学学报, 2006, 2: 181.
- [65] 沈海龙. 近红外漫反射光谱法快速鉴别地骨皮和伪品茎皮大青根皮[J]. 辽宁中医杂志, 2010, 6: 1103.
- [66] 孙素琴, 周群, 张宣, 等. 傅里叶变换拉曼光谱法无损鉴别植物生药材[J]. 分析化学, 2000, 28(2): 211.
- [67] 刘蓬勃, 朱世玮, 孙素琴. 傅里叶变换拉曼光谱法鉴别八角茴香及其伪品[J]. 时珍国医国药, 2001, 12(10): 903.
- [68] 吕扬, 郑启泰, 吴楠, 等. 中药材 X-射线衍射图谱研究[J]. 药学报, 1997, 32(3): 193.
- [69] 张强, 李祥, 陈建伟. 药用石膏生、煅品与类似含钙矿物药 X-衍射谱的比较[J]. 南京中医药大学学报, 2009, 25(1): 42.
- [70] 郑笑为, 张继, 马双成. 中药材珍珠的 X 衍射 Fourier 谱研究[J]. 药物分析杂志, 1999, 19(4): 246.
- [71] 周俊, 蔡金娜, 吕扬, 等. 中药蛇床子的粉末 X 衍射分析[J]. 中草药, 1999, 30(1): 59.
- [72] 朱志峰, 王树春, 刘旭英, 等. 中药材蛤蚧的 X 衍射 Fourier 谱分析[J]. 中草药, 2001, 32(10): 932.
- [73] 袁久荣. 紫外光谱鉴别中草药的研究状况[J]. 山东中医学院学报, 1988, 12(1): 45.
- [74] 袁久荣, 张子忠, 韩相永, 等. 中药鉴别导数紫外光谱谱线组法研究[J]. 山东中医学院学报, 1990, 14(6): 56.
- [75] 周仰青, 徐平, 徐锦池. 荧光试验鉴别中药材 80 种[J]. 时珍国医国药, 1999, 10(5): 351.
- [76] 魏永巨, 张英华, 史训立, 等. 白花前胡与紫花前胡水提液的三维荧光光谱[C]. 长春: 第十四届全国光谱学学术会议, 2006: 263.
- [77] 刘翠格, 史训立, 魏永巨, 等. 山豆根与北豆根水提液的三维荧光光谱[C]. 长春: 第十四届全国光谱学学术会议, 2006: 261.
- [78] 秦海林, 赵天增. 核磁共振氢谱鉴别植物中药的研究[J]. 药学报, 1999, 34(1): 58.
- [79] 秦海林, 尚玉俊, 赵伟, 等. 核磁共振氢谱法鉴别黄连的研究[J]. 中草药, 2000, 31(1): 2346.
- [80] 陈艳江, 刘艳艳, 赵国忠, 等. 基于支持向量机的中药太赫兹光谱鉴别[J]. 光谱学与光谱分析, 2009, 29(9): 48.
- [81] 翟为民, 袁永生, 周玉新, 等. 人参、西洋参及三七参指纹图谱鉴别[J]. 中国中药杂志, 2001, 26(7): 481.
- [82] 陈胡兰, 汤沛然, 张梅, 等. 紫花地丁药材及其混淆品的 HPLC 指纹图谱研究[J]. 中国药学杂志, 2010, 45(18): 1372.
- [83] 张尊建, 王源园, 李茜. 五种石斛的指纹图谱研究[J]. 中国药科大学学报, 2003, 34(6): 534.
- [84] 裴利宽, 郭宝林, 黄文华. 淫羊藿属主要资源种类的 HPLC 指纹图谱特征和种类鉴定[J]. 中国中药杂志, 2008, 33(14): 1662.
- [85] 黄荣清. 气相色谱保留指数在中药挥发油鉴定中的应用[J]. 药物分析杂志, 1998, 18(3): 232.
- [86] 金海燕, 陈晓辉, 张舒婷, 等. 羌活和独活药材气相色谱指纹图谱的建立及鉴别[J]. 沈阳药科大学学报, 2009, 26(5): 369.
- [87] 张广春, 赵昕, 陈明明, 等. 西红花的气相色谱法真伪鉴别分析[J]. 中医药导报, 2011, 17(7): 86.
- [88] Welsch T, Michalke D. (Micellar) electrokinetic chromatography: an interesting solution for the liquid phase separation dilemma[J]. J Chromatogr A, 2003, 1000(1/2): 935.
- [89] 江尚飞, 杨元娟, 何静, 等. 高效毛细管电泳技术在中药指纹图谱研究中的应用[J]. 中国药房, 2010, 21(15): 1435.
- [90] 侯连兵, 陈振德, 陈志良, 等. 三七及其混淆品蛋白多肽高效毛细管电泳法鉴别[J]. 中草药, 2000, 31(11): 859.
- [91] 孙毓庆, 阮婧华, 马欣. 中药的毛细管电泳指纹图谱研究[J]. 色谱, 2003, 21(4): 303.
- [92] 曾艳萍, 刘训红, 李俊松. 沙苑子的 HPCE 指纹图谱鉴别[J]. 现代中药研究与实践, 2007, 21(4): 18.
- [93] 叶文文, 邵毅, 胡润淮. 白术的 UPLC 指纹图谱[J]. 中国现代应用药学, 2010, 27(9): 799.
- [94] Peng S X. Hyphenated HPLC-NMR and its applications in drug discovery[J]. Biomed Chromatogr, 2000, 14(6): 430.
- [95] 洪亚君, 周波波. HPLC-MS 技术在中药鉴定中的应用[J]. 浙江中医药大学学报, 2010, 3(3): 438.
- [96] 孙萍, 罗国安. LC-MS 鉴定木通、川木通与关木通[J]. 中药材, 2004, 27(12): 898.
- [97] Ye M, Yan Y N, Guo D A. Characterization of phenolic compounds in the Chinese herbal drug Tu-Si-Zi by liquid chromatography coupled to electrospray ionization mass spectrometry [J]. Rapid Commun Mass Spectrom, 2005, 19(11): 1469.
- [98] 胡岩, 段天璇, 曹枫, 等. 八角科植物果皮化学成分的 LC/MS 图谱特征及其在分类和药材鉴别上的意义[J]. 中国中药杂志, 2010, 35(14): 1836.
- [99] Pan R J, Guo F Q, Lu H M, et al. Development of the chromatographic fingerprint of *Scutellaria barbata* D. Don by GC-MS combined with chemometrics methods [J]. J Pharmaceut Biomed Anal, 2011, 55(3): 391.
- [100] Hu L F, Li S P, Cao H. GC-MS fingerprint of *Pogostemon cablin* in China [J]. J Pharmaceut Biomed Anal, 2006, 42(2): 200.
- [101] Zhu H B, Wang Y Z, Liang H, et al. Identification of *Portulaca oleracea* L. from different sources using GC-MS and FT-IR spectroscopy [J]. Talanta, 2010, 81(1/2): 129.
- [102] 金翠云, 崔瑶, 王颖. 电子鼻及其在各领域的最新研究进展[J]. 传感器世界, 2010, 16(3): 6.
- [103] 御影雅幸, 田邊牧, 新村春香, 等. ニオイセンサーによる生薬の品質評価[J]. Nat Med, 2005, 59(2): 63.
- [104] 刘红秀, 姬生国, 庄家俊, 等. 基于仿生嗅觉的中药材鉴别的实现[J]. 广东药学院学报, 2009, 25(4): 356.
- [105] 王蔚听. 中药的电子鼻鉴别方法研究[D]. 北京: 北京中医药大学, 2009.
- [106] 邓少平, 田师一. 电子舌技术背景与研究进展[J]. 食品与生物技术学报, 2007, 26(4): 110.



- [107] 胡洁,李蓉,王平.人工味觉系统——电子舌的研究[J].传感技术学报,2001,31(2):169.
- [108] 王俊,胡桂仙,于勇,周亦斌.电子鼻与电子舌在食品检测中的应用研究[J].农业工程学报,2004(2):292.
- [109] 郑利平.色差计基本原理及其在文物修复作色中的实际应用[J].重庆工学院学报,2007,21(6):61.
- [110] Foster I, Cad Kesselman. The grid 2: blueprint for a new computing infrastructure[M]. Los Altos, CA: Morgan Kaufmann Publishers, 2004.
- [111] 徐吉祥,楚炎沛.色差计在食品品质评价中的应用[J].现代面粉工业,2010(3):43.
- [112] 陈楚明,吴纯洁,孙灵根,等.中药饮片有关颜色描述客观化表达的构建思路[J].世界科学技术——中医药现代化,2007,9(4):22.
- [113] 黄学思,李文敏,张小琳,等.基于色彩色差计和电子鼻的槟榔炒制火候判别及其指标量化研究[J].中国中药杂志,2009,34(14):1786.
- [114] 沈昱翔.丹参药材形态特征与质量的相关性研究[D].成都:成都中医药大学,2011.
- [115] 坪井诚太郎.偏光显微镜[M].2版.东京:东京千代田岩波书店,1962:81.
- [116] Zhao Z Z, Shimomura H, Sashida Y, et al. Identification of traditional Chinese patent medicines by a polariscope (1). Polariscopic characteristics of starch grains and calcium oxalate crystals[J]. Nat Med, 1996, 50(6): 389.
- [117] 黄源.显微镜[M].北京:人民卫生出版社,1958:160.
- [118] 朱志峰.动物药材鉴别[M].西安:陕西科学技术出版社,1983:36.
- [119] 张亚敏.偏光显微镜在矿物药鉴定中的应用[J].中成药,1988,4.
- [120] 温海成.34种矿物药的鉴定研究[D].大连:辽宁中医药大学,2008.
- [121] 周晔.生药学[M].北京:人民卫生出版社,2007.
- [122] 康廷国,纪俊远,王金萍,等.四种洋金花的显微鉴定[J].中药通报,1987,12(12):12.
- [123] 胡东维,蒋选利,姚雅琴,等.十字花科十九种种皮微形态学研究[J].西北农业大学学报,1992,22(1):61.
- [124] 韩荣兰,张奠湘,郝刚,等.中国桑寄生科植物叶表皮微形态[J].广西植物,2004,24(5):426.
- [125] 吕洪飞,许常丹,邵邻相,等.紫茎泽兰器官表面微形态的观察[J].电子显微学报,2005,24(2):157.
- [126] 肖小河,舒光明,方清茂,等.中药组织连续切片计算机三维重建与动态显示[J].生物医学工程学杂志,1997,14(2):131.
- [127] 肖小河,夏文娟,秦松云,等.国产姜黄属药用植物叶表皮显微图像模式识别[J].中国中药杂志,2001,26(8):523.
- [128] 周建理,杨青山.中药微性状鉴定法[J].安徽中医学院学报,2001,30(1):66.
- [129] 陈泽渊,吴七根.双子叶植物的叶脉特征在植物分类学上的应用[J].植物学通报,1993,10(增刊):35.
- [130] 何报作,曾静,韦郃,等.鬼针草与易淆品白花鬼针草的叶形态——脉序图谱鉴别特征[J].中国中药杂志,2009,34(19):24.
- [131] 张贵君,李晓波,李仁伟.常用中药生物鉴定[M].北京:化学工业出版社,2006:161.
- [132] 曹俊岭,李寒冰,肖小河.基于热力学观和还原整合的中药物质基础筛选模式和方法的设想[J].中国中药杂志,2008,33(7):863.
- [133] 赵艳玲,山丽梅,金城,等.基于生物热活性表达的中药板蓝根品质评价研究[J].中药材,2008,31(5):743.
- [134] 代春美,肖小河,胡艳军,等.微量热法对不同产地黄连品质的评价[J].中成药,2008,30(8):1179.
- [135] 李会芳,王伽伯,曲毅,等.致泻效价检测用于大黄品质评价的方法研究[J].中国中药杂志,2008,33(11):1309.
- [136] 杨明华,杨苏蓓,金祖汉,等.益母草药材生物检定方法的研究(II)-缩宫素-益母草量效关系和检定适用效应模式的建立[J].中药材,2002,25(6):409.
- [137] 楚笑辉,王伽伯,周灿平,等.不同商品等级枸杞子的抗氧化活性比较及其生物效价检测[J].中国新药杂志,2011,20(7):599.
- [138] 陈士林.中药DNA条形码分子鉴定[M].北京:人民卫生出版社,2012.



Advances of studies on new technology and method for identifying traditional Chinese medicinal materials

CHEN Shilin^{1*}, GUO Baolin¹, ZHANG Guijun², YAN Zhuyun³, LUO Guangming⁴,
SUN Suqin⁵, WU Hezhen⁶, HUANG Linfang¹, PANG Xiaohui¹, CHEN Jianbo⁵

(1. *The Key Laboratory of Bioactive Substances and Resources Utilization of Chinese Herbal Medicine, Ministry of Education, Institute of Medicinal Plant Development, Chinese Academy of Medical Sciences & Peking Union Medical College, Beijing 100193, China;*

2. *Beijing University of Traditional Chinese Medicine, Beijing 100102, China;*

3. *College of Pharmacy, Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu 611137, China;*

4. *Jiangxi University of Traditional Chinese Medicine, Nanchang 330004, China;*

5. *Department of Chemistry, Tsinghua University, Beijing 100084, China;*

6. *Hubei University of Traditional Chinese Medicine, Wuhan 430065, China)*

[**Abstract**] In this review, the authors summarized the new technologies and methods for identifying traditional Chinese medicinal materials, including molecular identification, chemical identification, morphological identification, microscopic identification and identification based on biological effects. The authors introduced the principle, characteristics, application and prospect on each new technology or method and compared their advantages and disadvantages. In general, new methods make the result more objective and accurate. DNA barcoding technique and spectroscopy identification have their own obvious strongpoint in universality and digitalization. In the near future, the two techniques are promising to be the main trend for identifying traditional Chinese medicinal materials. The identification techniques based on microscopy, liquid chromatography, PCR, biological effects and DNA chip will be indispensable supplements. However, the bionic identification technology is just placed in the developing stage at present.

[**Key words**] identification of traditional Chinese medicinal materials; molecular identification; chemical identification; morphological identification; microscopic identification

doi:10.4268/cjmm20120801

[责任编辑 吕冬梅]