

近红外漫反射光谱法快速鉴别不同连翘饮片

朱建光, 郝敏, 白雁, 谢惠英, 胡小莉, 张迪文, 雷敬卫*
(河南中医药大学, 郑州 450008)

[摘要] 目的:研究利用近红外光谱技术结合判别分析法对不同连翘饮片进行定性鉴别分析。方法:采集不同连翘饮片的近红外光谱图,选择多元散射校正法(MSC)加SG平滑方法对光谱进行预处理,选择最佳建模波段为 $4\ 065.57\sim 8\ 350.90\ \text{cm}^{-1}$,最佳主成分数为10,建立定性分析模型,并用未知样品验证该模型。结果:表明所建定性模型的分类结果与实际所属一致,验证结果良好。结论:该方法操作简便,测定快速,结果准确,无污染,对中药材、烟草等多种行业质量检测过程中的能源节约与资源的高效利用均有重要意义。

[关键词] 近红外光谱;连翘饮片;判别分析;定性鉴别

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2016)08-0083-04

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2016080083

Fast Qualitative Identification of Different Forsythia Fructus by Near Infrared Diffuse Reflectance Spectrometry

ZHU Jian-guang, HAO Min, BAI Yan, XIE Hui-ying, HU Xiao-li, ZHANG Di-wen, LEI Jing-wei*
(Henan University of Traditional Chinese Medicine, Zhengzhou 450008, China)

[Abstract] **Objective:** To conduct qualitative identification analysis of different Forsythia Fructus with use of near infrared spectroscopy combined with discriminant analysis method. **Method:** Near infrared spectrograms of different Forsythia Fructus were collected, then multiplicative scatter correction method (MSC) and Savitzky-Golay (SG) smoothing method were used for spectral preprocessing. Qualitative analysis model was established under the optimal modeling wave band of $4\ 065.57\sim 8\ 350.90\ \text{cm}^{-1}$ and optimal number (10) for principal components, and then this model was validated with unknown samples. **Result:** The classification results of the qualitative model were consistent with the actual conditions, and the validation results were also satisfactory. **Conclusion:** This method is simple, rapid, accurate, and non-polluting, with great significance for resources saving and efficient use of energy during the quality inspection in Chinese herbs, tobacco and other industries.

[Key words] near infrared spectroscopy; Forsythiae Fructus; discriminant analysis; qualitative identification

连翘具有清热解毒、消肿散结、疏散风热之功效,为双黄连口服液、清热解毒口服液、银翘解毒片等中药制剂的主要原料,临床应用广泛^[1],是一味常用中药。由于连翘果实外部有一层蜡状物质,因此生品连翘难以晒干保存,容易发霉变质,疗效低

下,但是从外观上并无差异。药农常用加工方法为蒸或煮,蜡样物质融化,利于晒干保存并起到杀酶保苷的作用。因此常用的产地加工方法有生晒、蒸晒、煮晒3种,不同的产地加工方法化学成分含量不尽相同,疗效也存在一定差异。

[收稿日期] 20150511(011)

[基金项目] 河南省中药开发工程技术研究中心项目(142102313109);郑州市重点科技攻关计划项目(121PPTGG509);河南中医学院科研苗圃工程项目(MP2014-88)

[第一作者] 朱建光,副教授,从事中药学研究,Tel:13503859285,E-mail:13503859285@139.com

[通讯作者] *雷敬卫,副教授,博士,从事中药质量研究,Tel/Fax:0371-65575596,E-mail:ljwei@hactem.edu.cn

中药的真伪优劣鉴别自古以来为医家所重视。中药材的伪品,劣质品直接影响了中药的质量,而难以保证质量的中药材又大大降低了医疗效果;药材的真伪优劣传统上主要采用药材性状鉴定、理化鉴定、显微鉴定以及常规的分子色谱法鉴别等手段,不仅结果不够准确,而且均需对药材进行繁琐的样品处理,不能满足中药现代化发展的需求。

近红外光谱技术自上个世纪 70 年代以来,由于其分析速度快、对样品无损害、无化学污染等显著优点,广泛用于中药真伪优劣的鉴别、活性成分测定等^[2-6]。本研究利用近红外光谱技术结合判别分析法对不同连翘饮片进行分类鉴别,并与实际结果进行分类对比。

1 材料

Nicolet 6700 型傅立叶变换近红外光谱仪(配有 Ingas 检测器、外接积分球、样品旋转器、OMNIC 光谱采集软件和 TQ Analyst 8.0 分析软件,美国 Thermo Nicolet 公司),OPUS 分析软件(德国 Bruker 公司),FW-100 型高速万能粉碎机(北京中兴伟业仪器有限公司)。连翘样品为 2014 年 8 月底采集于河南洛阳野生连翘保护基地,经实验室炮制加工得到 125 份,由河南中医学院陈随清教授鉴定为药用连翘 *Forsythia suspensa* 的干燥果实。

2 方法

2.1 NIR 光谱采集 将收集到的 125 份样品粉碎,过 40 目筛,取粉末约 6 g 放入石英样品杯中,混合均匀,以空气为参比,按下述试验条件进行扫描,测样方式积分球漫反射,分辨率 8 cm^{-1} ,光谱采集范围 $12\ 000\sim 4\ 000\text{ cm}^{-1}$,扫描次数 64 次,温度 $20\sim 22\text{ }^\circ\text{C}$,相对湿度 $30\%\sim 36\%$ 。每个样品重复扫描 3 次,求平均光谱,125 份连翘饮片样品的原始近红外光谱叠加见图 1。

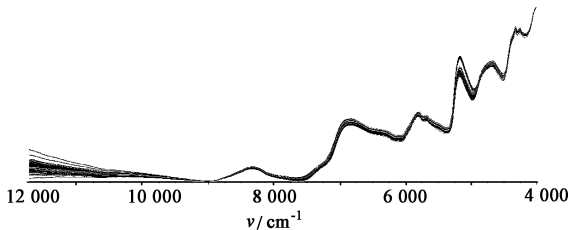


图 1 125 份连翘饮片的近红外光谱叠加
Fig.1 Original near infrared reflectance spectra of 125 samples

由图 1 可以看出 125 份样品的近红外原始图谱基本一致,很难看出药材的光谱信息差别。一方面是由于近红外光谱谱带自身重叠严重,另一方面由于中药成分众多,组成复杂,因此难以从原始近红外

光谱中找出特征吸收谱带,必须通过化学计量法对图谱进行处理和信息提取。

2.2 光谱预处理 近红外光谱除了含有样品待测成分信息外,往往还包含一些与待测样品性质无关因素带来的干扰,如样品的状态、杂散光、光的散射及仪器响应等的影响,均可导致近红外光谱的基线漂移和光谱的不重复。因此,为建立稳定、可靠的校正模型,应在数据分析前对光谱进行合理的处理,减弱甚至消除各种非目标因素对光谱信息的影响。本试验以错判例数与 PI 指数为指标筛选光谱预处理方法,不同预处理方法分析结果见表 1。经比较,以 MSC + SG 平滑方法处理效果最好,可以校正样品因散射而引起的光谱误差。

表 1 不同预处理方法分析结果

Table 1 Analysis results of different pretreatment methods

光谱预处理方法	错判例数	PI
Constant	3	91.9
MSC	1	92.5
SNV	2	92.8
MSC + 1st Der	2	90.6
MSC + 2nd Der	47	81.5
MSC + SG	0	92.9

2.3 建模波段选择 不同谱段的选择,对建立定性模型的效果有很大影响。建模时所选的光谱区间,不仅要包含指标性成分的最大信息量,避免冗余信息,还要尽可能的降低噪声干扰。本试验分别采取不同的谱段建立模型,以所建模型样品的错判个数来筛选最佳波段,试验结果见表 2,故选择最佳建模谱段为 $4\ 065.57\sim 8\ 350.90\text{ cm}^{-1}$ 。

表 2 不同光谱范围分析

Table 2 Different spectral range analysis results

建模波段/ cm^{-1}	错判数	PI
$4\ 010.63\sim 10\ 032.06$	4	92.5
$4\ 010.63\sim 9\ 515.63$	3	92.5
$4\ 164.46\sim 9\ 032.15$	2	92.6
$4\ 065.57\sim 8\ 350.90$	0	92.7

2.4 主成分数选择 主成分数的选择是优化模型的关键步骤。主成分数选择过少时,就不能反映未知样品被测组分产生的光谱变化,其模型预测准确度就会降低;选择主成分数过多时,就会将一些代表噪音的主成分加到模型中,出现计算结果“过拟合”现象,使模型的预测能力下降。为充分提高光谱信

号的有效信息利用率,同时避免出现“过拟合”现象,需要对主成分数进行合理选择^[7],可采用累积特征值(Cumulative Eigenvalues)与误判例数考察主成分数的选择是否合理,选取累计特征值趋近于 100,误判例数最小时建模,结果见表 3,不同主成分数的累积特征值见图 2,选择主成分数为 10 进行计算时错判例数为 0,累积特征值为 99.949 1,模型拟合效果良好,故选择最佳建模主成分数为 10。

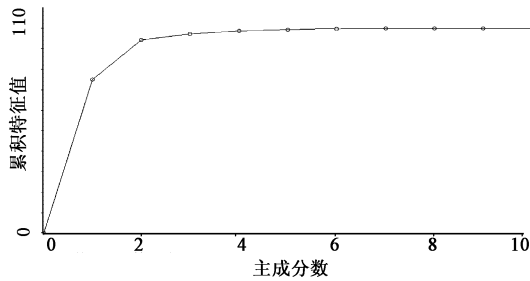


图 2 不同主成分数的累积特征值
Fig. 2 Cumulative eigenvalues of different principal components

表 3 不同主成分数分析
Table 3 Different principal components analysis results

主成分数	错判例数	累积特征值	主成分数	错判例数	累积特征值
1	78	0.000 0	6	7	99.250 0
2	13	75.022 3	7	6	99.659 2
3	12	94.149 9	8	2	99.844 6
4	11	97.334 8	9	1	99.899 5
5	7	98.756 5	10	0	99.949 1

2.5 不同连翘饮片的判别分析 采用 TQ Analyst 8.0 分析软件(美国 Thermo Fisher Scientific 公司)自带的化学计量学软件中的判别分析软件程序对样品进行分析,所用波段 4 065.57 ~ 8 350.9 cm⁻¹,采用多元散射校正法(MSC)加 SG 平滑方法对光谱进行预处理,选取前 10 个主成分数,判别结果见图 3。

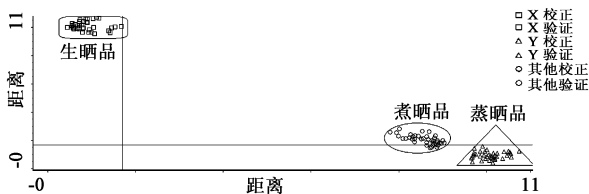


图 3 不同连翘饮片的判别分析
Fig. 3 Discriminant analysis chart of different Forsythia Fructus

2.6 分析原理及结果 属于同一类的样品,一定具有相似的特征。从几何角度看,在给定的特征空间中,如果特征参数选得好,属于同类的样品点就会以某种特定的方式聚集在一起。例如,同类的样品点

包含在一定大小的“球”、“柱”或“盒子”里面。不同类的样品点可能聚集在不同的空间区域,且这些区域所呈的几何特征也可能不同。该法是通过因子分析方法分别对每类校正集样本建立模型,然后对验证集进行识别^[8]。所建模型能将 3 种不同连翘饮片样品完全分开,每类样品离散程度较小,判错率为零。

2.7 模型验证 采用三重交叉验证方法考察模型的预测性能^[12]。把每种连翘饮片的样品随机分成 I, II, III 共 3 组,见表 4,依次取其中 1 组作为验证集,其余 2 组样品作为验证集进行建模,共循环 3 次,使每组样品均经历 1 次交叉验证,分组信息及判别模型的预测结果见表 5。由表 5 可知,所建模型对已知验证集样品的分类精度高达 100%,对未知样品的预测精度达到 100%,该模型具有很好的预测性能,这说明了所建方法性能优良,能够适用于不同连翘饮片的分类鉴别。

表 4 连翘饮片样品分组表
Table 4 Forsythia Fructus samples grouping table

No.	生晒品	蒸晒品	煮晒品	总数
I	13	14	15	42
II	13	13	15	41
III	14	13	15	42

表 5 模型的三重交叉验证
Table 5 Triple cross-validation results of the model

分类	组号	样品个数
校正集	I 和 II	83
验证集	III	42
校正集	I 和 III	84
验证集	II	41
校正集	II 和 III	83
验证集	I	42

注:正确率均为 100%。

3 讨论

光谱的预处理、建模方法及模型谱段的选择对建模效果有很重要的作用。本试验采用多元散射校正法(MSC)加 SG 平滑方法对光谱进行预处理,根据错判例数和 PI 指数选用最佳建模波段为 4 065.57 ~ 8 350.90 cm⁻¹、最佳主成分数为 10。结果显示,优化后的模型能将光谱隐藏的信息突出出来,可以清晰将不同连翘饮片样品完全分开。

近红外光谱可反应样品中含量 > 0.1% 的组分在结构与组成方面的信息,比单纯的化学指标、色谱

数据更全面、准确,可以更好地体现不同连翘饮片的整体信息,对其进行较为准确的识别,本方法为连翘饮片质量的优劣考察提供了一定的思路和依据。

近红外光谱技术作为一种“绿色”分析技术,优势突出,具有测试简单,无繁琐的前处理,简便快捷,不破坏样品,分析速度快,获得信息多等优点,极大地节约了检测样品的损耗,以及试剂污染,与人类资源与能源的可持续发展相得益彰,应用前景广泛。

[参考文献]

[1] 白雁,段小彦,雷敬卫,等. 近红外光谱法在青翘含量测定中的应用[J]. 中国实验方剂学杂志, 2013, 19(23):111-114.
[2] 孙国明,刘国林. 近红外光谱技术在独活属药用植物分类中的应用[J]. 中国中药杂志, 2006, 31(23): 1996-1998.

[3] 白雁,余振喜,孙素琴,等. 近红外漫反射技术测定牛膝中蜕皮甾酮[J]. 中草药, 2005, 36(9):1391-1394.
[4] 魏道智,郭澄,吴秋业,等. 蜈蚣的近红外光谱鉴别研究[J]. 中国中药杂志, 2004, 29(7):639-640.
[5] 王宁,傅春华,周爱敏,等. 近红外漫反射光谱法直接测定小儿消食片中总有机酸的含量[J]. 中国中药杂志, 2007, 32(15):1597-1598.
[6] 王宁,蔡绍松,武卫红,等. 一种基于声光可调滤光器-近红外光谱技术的复方丹参片快速定性分析方法[J]. 中国中药杂志, 2008, 33(16):1964-1968.
[7] 聂黎行,王钢力,李志猛,等. 近红外光谱法对同仁乌鸡白凤丸的定性和定量分析[J]. 红外与毫米波学报, 2008, 27(3):205-209.
[8] 白雁,现代近红外光谱分析技术在药品及食品品质评价系统中的应用[M]. 北京:高等教育出版社, 2009.

[责任编辑 顾雪竹]

《中国实验方剂学杂志》入选“2015—2016 RCCSE 中国核心学术期刊”

由武汉大学中国科学评价研究中心(RCCSE)、武汉大学图书馆、中国科教评价网(www.nseac.com)共同研制的第4版《RCCSE 中国学术期刊评价研究报告——权威、核心学术期刊排行榜(2015—2016)》已于2015年1月13日公布,《中国实验方剂学杂志》被评定为“RCCSE 中国核心学术期刊(A)”,在参评的112本中医学与中药学类期刊中综合排名第15名。

本次学术期刊评价在重点突出期刊学术影响力的同时,也注重了对期刊网络传播效率和期刊即时反应速率的考察,主要评价指标有:总被引频次、2年影响因子、即年指标、基金论文比、Web即年下载率、二次文献转载量(或国外重要数据库收录情况)和专家定性评价。参评期刊共6201种,排名前5%的“RCCSE 中国权威学术期刊”(A⁺)316种,排名前5%~20%的“RCCSE 中国核心学术期刊”(A)和排名前20%~30%的“RCCSE 中国核心学术期刊(扩展版)”(A⁻)共1572种,准核心的学术期刊1848种(B⁺),一般期刊1828(B)种,较差期刊637种(C)。

“RCCSE 中国核心学术期刊”是继“中文核心期刊(北大)”和“中国科技核心期刊”之后国内推出的又一核心期刊评价体系。