

近红外光谱鉴别法在中成药领域应用之初探

韩吴琦¹, 黄永丽^{2*}, 郭兴辉³

(1. 开封市食品药品检验所, 河南 开封 475000;

2. 河南大学淮河临床学院, 河南 开封 475000; 3. 河南省食品药品检验所, 郑州 450000)

[摘要] 目的: 研究近红外光谱快速鉴别法在中成药领域应用的可行性。方法: 选择17种常见的假中成药品种, 研究建立近红外光谱鉴别模型, 并进行实验室验证和实际应用验证。结果: 该方法能较准确地鉴别中成药的真伪, 不同品种近红外鉴别法的准确率达到80%~100%。结论: 近红外鉴别法在中成药领域有其实用价值, 目前相关的研究还存在一定的空白, 值得进一步研究推广应用。

[关键词] 近红外光谱; 鉴别; 中成药

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)22-0166-04

Explored Research of Application of Near Infrared Spectroscopy Identification Method in Chinese Patent Medicine

HAN Wu-qi¹, HUANG Yong-li^{2*}, GUO Xing-hui³

(1. Kaifeng Institute for Food and Drug Control, Kaifeng 475000, China;

2. Huaihe Clinical College of Henan University, Kaifeng 475000, China;

3. Henan Province Institute for Food and Drug Control, Zhengzhou 450000, China)

[Abstract] **Objective:** The feasibility of application of near infrared spectroscopy fast identification method in Chinese patent medicine was studied. **Method:** Seventeen species of commonly false Chinese patent

[收稿日期] 20111223(001)

[第一作者] 韩吴琦, 主管中药师, 从事中药质量评价、标准研究及中药快检研究, Tel:13903788376, E-mail:shying19811112@126.com

[通讯作者] *黄永丽, 讲师, 主治医师, Tel:13837819539, E-mail:hmdxhyl@126.com

- [11] Kubol, Kinst-Horil. Flavonols from saffron flower; tyrosinase inhibitory activity and inhibition mechanism [J]. *Agrie Food Chem*, 1999, 47(10): 4121.
- [12] Kubol, Kinst-Horil. Tyrosinase inhibitors from cumin [J]. *Agrie Food Chem*, 1998, 46: 5338.
- [13] Kubol, Kinst-Horil. Tyrosinase inhibitors from Oil [J]. *Agrie Food Chem*, 1998, 46: 1268.
- [14] Kubol, Kinst-Horil. Ishiguro K, et al. Flavonols from *Heterotheca inuloide*, tyrosinase inhibitory activity and structural criteria [J]. *Bioorg Chem*, 2000, 8: 1585.
- [15] 石嘉悻. 青梅花提取物的酪氨酸酶抑制作用及机理研究 [J]. *食品工业科技*, 2011(10): 205.
- [16] 朴香兰, 朴香淑. 利用生物活性-液质联用跟踪方法快速分析苦参的酪氨酸酶抑制成分 [J]. *药物分析杂志*, 2009(9): 1407.
- [17] 朴香兰, 田燕泽, 秘效媛, 等. 光叉叶委陵菜的酪氨酸酶抑制作用 [J]. *中国中药杂志*, 2009, (15): 1952.
- [18] 傅博强, 李欢, 王小如, 等. 甘草黄酮类化合物对酪氨酸酶单酚酶的抑制 [J]. *天然产物研究与开发*, 2005(4): 391.
- [19] 王建国, 周忠, 刘海峰, 等. 甘草有效成分抑制酪氨酸酶活性的研究 [J]. *日用化学工业*, 2003(4): 268.
- [20] 杨柳依, 曹煌, 魏羽佳. 114种中药提取成分对酪氨酸酶活性的抑制作用 [J]. *中华皮肤科杂志*, 2003, 36(4): 266.
- [21] 何蓉蓉, 李维熙, 李怡芳, 等. 火棘果实提取物的美白作用 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2011, 17(2): 184.
- [22] 王强, 刘玲玲, 唐军, 等. 新疆产孜然抗氧化活性研究 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2012, 18(16): 313.

[责任编辑 邹晓翠]

medicine are selected to establish a night-time ozone profile (NIR) model, which is tested in both laboratory room and practical application. **Result:** The near infrared spectroscopy identification method could identify the true and false of Chinese patent medicines more accurately. The accuracy rate of different kinds was 80% -100%. **Conclusion:** There is practical value in the application of near infrared spectroscopy fast identification method in Chinese patent medicine. At present, there is certain blank in relevant research, thus, it deserves further study, popularization and application.

[**Key words**] NIR; discrimination; Chinese patent medicine

近红外光谱技术因其独特优势被广泛应用于石化、农业、制药等领域^[1-3]。近年来,该技术在中药质量控制领域的应用日益增多^[4-5],但多停留在实验室研究。近红外光谱仪作为药品检测车上的重要筛查假劣药品的工具,已用于化学药品和抗生素的检测打假,而在中成药方面则由于没有建立系统的近红外鉴别模型而尚未能应用。本文以中成药为对象,选择当前市场上较常见、造假比较多且从外观上难以判别的假劣中成药品种,研究建立了近红外光谱真伪鉴别模型,为近红外光谱在中成药领域快速检测提供了新的思路、开拓了新的视野,并取得了初步成效。

1 仪器与试药

BRUKER MATRIX-F 近红外光谱仪,OPUS5.5 工作站,SFDA 工作站,光纤,液体测试支架。

正品样品从本市流通企业购买,伪品从日常监督检查中发现,并且均按法定检验标准检验确定真伪,编号备用。

2 中成药鉴别模型的建立

2.1 样品处理 根据具体不同品种的样品剂型做不同的处理。一般没包糖衣且大小能覆盖近红外光斑的片剂直接测试;一些糖衣片剂用锉刀锉去糖衣且锉去的糖衣斑点大小要能覆盖光斑;测试非铝塑胶囊剂时,使药粉振落到囊体中,直接用光纤探头顶住囊体进行测试;水丸、浓缩丸用锉刀磨平之后,面积能够覆盖光斑的直接用锉刀磨平后测试,不能覆盖光斑的或者个别丸剂的包衣对测量有影响的粉碎过5号筛,取粉末,置专用西林瓶中测试;蜜丸从中间切开直接测试;水针剂直接用测试水针剂的专用液体测试支架测试;粉末状或者颗粒状的中成药混匀,置专用西林瓶中测试(均应使厚度约为5 mm,用近红外光谱仪的光纤探头对准西林瓶底部照射)。

另外,由于近红外可以进行无损检测,所以对于铝塑胶囊剂、铝塑非糖衣片剂,西林瓶粉针剂等可以以不破坏包装进行测试。测试铝塑胶囊剂时,使药粉振落到囊体中,直接用光纤探头顶住囊体进行测

试;测试铝塑非糖衣片剂时,直接用光纤探头顶住铝塑片剂的塑面进行测试;测试西林瓶粉针剂时,先把药粉震落瓶底,再用近红外的光纤探头对准西林瓶较平处进行测试。

2.2 定性鉴别模型的建立

2.2.1 光谱采集及光谱预处理方法 按上述方法处理样品后,每批样品重复扫描3次,采集其近红外(NIR)光谱(在采集光谱时务必统一、规范填写采集的光谱名称,因为这直接影响到以后SFDA工作站的使用。例如:药品通用名+剂型)。用OPUS5.5光谱工作站,先计算出每个样品的平均光谱和阈值[阈值=最大匹配值+0.25*SDev(SDev指组内各光谱与平均光谱距离的标准偏差)],建立正品光谱图数据库和伪品光谱图数据库。分析观察光谱的差异,选择光谱差异较大处谱段作为建模的特征谱段。然后分别尝试用一阶导数+矢量归一法或者二阶导数+矢量归一法进行光谱预处理,配合因子化法、标准化法建立定性鉴别模型,确定参数。

利用OPUS工作站的INDENT定性分析软件提供的6种谱图预处理方法,只改变预处理方法而不改变其他建模条件,建立不同的模型,比较不同模型的相关参数,如阈值(DT)、实际光谱距平均光谱距离的标准偏差(SDev)和平均光谱距离(MD)。结果发现矢量归一化与一阶导数联用,所得到的模型参数阈值(DT)较为适中,因为阈值过大易与其他同类品种的“空间球”半径相交叉,阈值过小模型又没有伸缩性,同时模型参数SDev和MD值与其他使用导数处理的预处理方法比较也较小,说明在此条件下模型的识别性能较好。见表1。

2.2.2 谱图平滑点数的选择 对谱图进行适当的平滑处理,可有效去除噪音干扰,并突出谱图的固有特征;但过度的平滑则可能导致信息失真。对上述采用矢量归一与一阶导数预处理后的谱图进一步进行不同的平滑处理,以DT,SDev和MD为指标,比较不同平滑处理对样品相互识别的影响。结果不同的平滑处理方法各DT相近,但对谱图进行9点平

表 1 健胃消食片(0.8 g/片)不同预处理方法对模型参数的影响

预处理方法	阈值	标准偏差	平均光谱
未处理	9.366	0.098	0.094
矢量归一	0.181	0.098	0.092
一阶导数	0.016	0.377	0.361
二阶导数	0.001	0.378	0.357
矢量归一与一阶导数	0.689	0.376	0.358
矢量归一与二阶导数	0.855	0.377	0.358

滑处理,模型参数 SDev 和 MD 最小,提示此时模型的识别性能最好,因此采用 9 点平滑处理谱图。见表 2。

表 2 健胃消食片(0.8 g/片)不同平滑点数对模型参数的影响

平滑点数	阈值	标准偏差	平均光谱距离
5	0.696	0.379	0.361
9	0.689	0.376	0.358
13	0.688	0.377	0.359
17	0.686	0.377	0.358

另取部分未参与建模的样品(含正品和伪品)作为验证集,分别用这些模型进行鉴别,初步验证,并将其结果与法定方法鉴别结果比较。选择验证准

表 3 17 种常见中成药的近红外建模参数及验证样品数(正品/伪品)/批

No.	品名	样品处理	数据预处理方法	建模样品数量/种	验证样品数量/种	验证准确率/%
1	消渴丸	直接磨平,面积能够覆盖光斑	二阶导+矢量归一化法	26,12	8,20	100
2	地奥心血康胶囊	直接顶住铝塑囊体	一阶导+矢量归一化法	28,11	10,25	100
3	健胃消食片(0.8 g/片)	直接顶住铝塑	二阶导+矢量归一化法	30,15	9,48	100
4	健胃消食片(0.5 g/片)	直接顶住铝塑	二阶导+矢量归一化法	30,14	10,32	100
5	金乌骨通胶囊	直接顶住铝塑囊体	一阶导+矢量归一化法	20,10	6,8	100
6	华佗风痛宝胶囊	直接顶住铝塑囊体	一阶导+矢量归一化法	18,6	5,9	100
7	风寒金骨胶囊	直接顶住铝塑囊体	一阶导+矢量归一化法	16,5	8,7	93.3
8	补肾丸	直接磨平,面积能够覆盖光斑	二阶导+矢量归一化法	13,4	6,12	100
9	小金丸	直接磨平,面积能够覆盖光斑	二阶导+矢量归一化法	15,3	8,6	100
10	全鹿丸	从中间切开	二阶导+矢量归一化法	13,5	6,8	92.9
11	参茸丸	从中间切开	二阶导+矢量归一化法	12,4	5,6	90.1
12	六味地黄丸	直接磨平,面积能够覆盖光斑	二阶导+矢量归一化法	25,7	10,18	100
13	利胆排石片	磨去糖衣	一阶导+矢量归一化法	20,5	7,9	100
14	妇康宁片	磨去糖衣	一阶导+矢量归一化法	12,4	4,7	81.8
15	心脑血管软胶囊	直接测试	一阶导+矢量归一化法	15,4	5,7	83.3
16	大黄蛰虫胶囊	直接顶住铝塑囊体	一阶导+矢量归一化法	17,3	3,6	100
17	肺力咳胶囊	直接顶住铝塑囊体	一阶导+矢量归一化法	20,5	6,10	100

注:法定检验结果均为不符规定。

准确率最高者作为该品种的 NIR 鉴别模型。如果上述所建模型验证准确率均不理想,则采取改变特征谱段的方式重试或者采取改变数据预处理组合的方式,直至取得验证准确率较理想的模型为止。

2.3 模型的完善与鉴别结果的判断 取未知样品按上述方法处理并采集其 NIR 光谱、制作平均光谱图,然后调入到该品种的鉴别模型中检测,判别结果有 3 种情况,通常显示:正品(√)或伪品(×)。而有时会出现“Identify Not OK”的结果,这样的结果是指该样品与本模型的数据库中的正品和伪品均不同,无法判定,笔者将其定义为“可疑样品”。出现这种情况,说明建立的这个模型有待进一步改进,可以采取改变其特征谱段或者数据预处理方法,进行再次建立模型。另外,当一个定性模型中包含多个组的时候,难以在第一层(First Library)中一次将所有组都区分开来,往往一些光谱图比较相似的组需要做进一步的区分。此时可以将这些组作为下一层的目标,再选择合适的预处理方法和判断进行区分。这样就极大的减小了“可疑样品”出现的概率。

3 实例

本文按上述方法研究建立了 17 种较常见中成药及其伪品的近红外鉴别模型,结果见表 3。

4 模型的应用

建模初步完成后,笔者随即安装于药品检测车上在本辖区内药品日常监督抽样工作中试用。经近红外鉴别模型筛选出可疑样品并抽样 252 批,按法定标准检验证实不合格 238 批,不同鉴别模型的鉴别准确率 80% ~ 100%,平均准确率达 94.4%。

5 讨论

由于技术的原因以及中成药自身的特殊性,目前中成药的生产、经营秩序较乱,假劣中药成仍屡禁不止,严重危害人民身体健康和生命安全。因此,亟需一种简便、快速、可靠、易推广的中成药鉴定技术。现有的中成药快检方法主要有显微鉴别、理化鉴别、口尝、鼻闻等经验鉴别。经验鉴别法简易快速,但需要鉴别者具有相当的经验而且有一定的风险(如有毒、有刺激性的药品),而其他鉴别方法的操作均较复杂,需要在实验室内进行,耗时长,不适合于现场快速检验。本文选择当前市场上质量问题较多的 17 种中药,研究建立近红外光谱鉴别模型,利用国家药品检测车车载近红外光谱仪,将中成药传统的鉴别方法改变为近红外现场筛查方法,达到了快速、简便、环保和较准确的目的,可用于药品日常监督抽样时的现场初筛。

近红外光谱主要是反映有机分子中含氢基团 X-H(X=O,N,S,P)等振动的倍频和合频吸收信息,其谱带宽,信息量大,不同物质在近红外区域都有丰富的吸收光谱^[7]。从理论上说,只要两种药物所用原辅料有明显的差别,其叠加光谱的信息经过分析处理就应能找到其区别特征。另外,中成药的伪品大多都是用中药材或者一般植物粉碎添加西药混合而成的,和真品中成药的化学成分大多有较明显差别,因此,进一步扩大研究和推广范围很有必要。

由于假中成药的成分相当复杂,建模过程需要不断调整特征谱段和数据预处理方法来调整模型判别的准确性,要选择合适的谱段、预处理方法、平滑点数以及算法,以便将各组药品光谱有效的分开。有的品种增加建模用的原始光谱数量可使鉴别准确率提高,一般而言,原始光谱数量超过 30 张之后准

准确率基本趋于一致。因此原始光谱数量应该在 30 ~ 60 张(具体数量和影响原因正在研究中)。选择谱段时,尽量避开 $7\ 100 \sim 7\ 500\ \text{cm}^{-1}$, $5\ 000 \sim 5\ 500\ \text{cm}^{-1}$ 波数处的水峰及 $7\ 100\ \text{cm}^{-1}$ 波数处滑石粉的峰。因此,建模时要根据实际情况灵活掌握。

建模过程中选择因子非常重要。如果有多个组,因子的组合往往需要多次尝试。如果只有两个组且光谱比较相似,往往不选第一个因子;如果差异较大,往往选择第一个因子比较好。

参与建模的光谱要具有代表性,即能够代表该组或该类中成药的情况。因此,收集的样品是否真实可靠,是否具代表性,直接关系到该模型实际应用的准确率。因此,近红外在的推广应用过程中,根据市场及市场上新出现的假劣品种情况,对鉴别模型进行及时调整升级才能保持更高的鉴别准确率。

[参考文献]

- [1] 刘燕德,陈兴贞,欧阳爱国. 可见/近红外光谱法无损检测赣南脐橙可溶性固形物[J]. 光学学报, 2008, 28(3):478.
- [2] 赵杰文,张海东,刘木华. 简化苹果糖度预测模型的近红外光谱预处理方法[J]. 光学学报, 2006, 26(1):136.
- [3] 刘飞,何勇,王莉. 黄酒糖度预测的可见近红外光谱方法研究[J]. 光学学报, 2007, 27(11):2054.
- [4] 蒋雪,张经硕,邱敏,等. 重楼皂苷提取工艺优化与近红外光谱在线质量控制[J]. 分析化学, 2006, 34(S):S171.
- [5] 刘雪松,施朝晟. 程翼宇,等. 基于自组织映射神经网络的中药注射剂质量快速鉴别方法[J]. 分析化学, 2007, 35(10):1483.
- [6] 蔡佳良,郭念,黄洁燕,等. 运用近红外光谱法建立广藿香中百秋李醇的定量模型[J]. 中国中药杂志, 2012, 37(14):2113.
- [7] 魏丽萍,吴春敏. 近红外光谱技术在中药分析领域中的应用[J]. 海峡药学, 2010, 22(3):50.

[责任编辑 邹晓翠]