

一种基于近红外的红参药材质量快速评价方法

杨海雷, 刘雪松, 瞿海斌, 程翼宇*

(浙江大学 中药科学与工程学系, 浙江 杭州 310027)

摘要:目的 应用近红外 (NIR) 光谱技术和化学计量学方法建立红参药材质量评价的新方法。方法 对红参同时进行原料定性鉴别和水分含量检测。将样品 NIR 光谱同标准光谱库相比较, 计算相似度匹配值。以传统的干燥失重法 (LOD) 为参照方法, 应用相关光谱法进行波长选择和多重散射校正 (MSC) 方法进行光谱预处理, 采用偏最小二乘 (PLS) 回归方法建立 NIR 光谱预测水分含量的校正模型。结果 NIR 光谱库可正确区别红参和伪品; 最优 PLS 校正模型相关系数为 0.999 7。结论 此方法快速、准确, 可用于中药生产企业的原料药材质量控制。

关键词: 近红外光谱; 红参; 中药材鉴别; 水分分析

中图分类号: R282.6

文献标识码: A

文章编号: 0253-2670(2005)06-0912-04

Fast quality assessment of *Radix Ginseng Rubra* by near-infrared spectroscopy

YANG Hai-lei, LIU Xue-song, QU Hai-bin, CHENG Yi-yu

(Department of Chinese Medicine Science and Engineering, Zhejiang University, Hangzhou 310027, China)

Abstract; Objective Near-infrared (NIR) reflectance spectroscopy was used to develop a fast quality assessment method by simultaneous material identification and moisture quantification of *Radix Ginseng Rubra* (RGR). **Methods** The sample was identified by the comparison of its spectrum with a standard NIR spectral library. Similarity measurement was used as the discriminating parameter. The moisture content of sample was quantified by a partial least square (PLS) calibration model, correlative spectrum calculation was used for wavelength selection and multiplicative signal correction (MSC) was applied for pre-treatment in the calibration model. Primary reference data were obtained using the traditional loss on drying (LOD) method. **Results** The NIR library can distinguish RGR from the counterfeit successfully. The optimized eight-factor PLS calibration model of NIR spectra has a high correlation coefficient ($R = 0.9997$). **Conclusion** The proposed method is rapid, accurate and can be used routinely in the traditional Chinese materia medica manufacturers for quality control of raw materials.

Key words: near-infrared (NIR) spectroscopy; *Radix Ginseng Rubra* (RGR); identification of traditional Chinese medicinal materials; moisture analysis

人参为五加科植物人参 *Panax ginseng* C. A. Mey. 的干燥根。将鲜参蒸煮后晒干或烘干的称“红参”, 其性温、味甘、微苦^[1], 具有大补元气、固脱生津、安神益智等功效。由于红参价格较贵, 市场上出现了很多假冒和掺伪品, 如商陆、华山参等等。传统的人工鉴别方法需要熟练的技工且缺乏科学依据。有报道采用 HPLC 指纹图谱的方法对红参质量进行评价^[2], 但该方法需要一系列的样品处理工作、大量昂贵的试剂和熟练的操作人员。另外, HPLC 分析是建立在各化学组分有效分离的基础上, 受实验操作条件影响大。另一个影响红参及其成品质量的因素是药材的水分。水分量的不同不仅会影响红参的

生物活性及药用价值^[3], 而且影响生产中使用的干药材量从而影响了最终产品的质量。中药中常用的水分分析方法是干燥失重法 (LOD), 该方法实际检测的是在所采用的干燥条件下所有挥发掉的成分, 而并非仅仅是水分^[4]。此方法也需要精确的称重和大量的时间。近红外 (near infrared, NIR) 光谱分析技术是一种方便、快速、无损的绿色分析技术。光谱特性稳定, 信息量大, 在对植物药进行整体质量评价方面有很大的潜力^[5]。本研究建立了红参药材的 NIR 光谱库和红参药材水分量的 NIR 光谱校正模型。采用光谱相似度算法将待测样品的 NIR 光谱与光谱库中标准光谱进行比较, 实现对待测样品的定

收稿日期: 2004-08-16

基金项目: 国家“十五”重大科技攻关计划资助 (2001BA701A45); 浙江省科技厅重大科技计划 (021103549)

作者简介: 杨海雷 (1979—), 男, 河南鹤壁人, 硕士研究生, 主要从事中药分析方面的研究。Tel: (0571) 87994249

* 通讯作者 程翼宇 Tel: (0571) 87952509 Fax: (0571) 87951138 E-mail: Chengyy@zju.edu.cn

性鉴别;然后将通过鉴别的样品光谱输入校正模型预测其水分量。研究表明,基于 NIR 光谱的定性与定量相结合方法适于对红参药材质量进行快速评价。

1 实验部分

1.1 仪器和材料:Antaris 傅里叶变换近红外光谱仪(美国 Thermo Nicolet 公司),积分球漫反射检测器附件,石英样品瓶。该仪器配有软件包,Result 软件用于光谱的采集,TQ Analyst 软件用于光谱的处理和计算。AB204—N 电子天平(Mettler-Toledo),手提式粉碎机(上海淀久中药机械制造公司)。

红参部分由市场购得,部分由正大青春宝药业公司提供;商陆 *Phytolacca acinosa* Roxb. 由市场购得;均经正大青春宝药业公司高级工程师马珠凤鉴定。将红参、商陆磨成粉后过 60 目筛。建立原材料鉴别的光谱库及验证,使用不同枝数、不同产地的红参样品,共 21 个(表 1),一个商陆样品及一个掺伪品(红参掺加商陆)。水分分析共使用 4 个不同批次的红参样品。将样品放入真空烘箱中 3~4 d,温度 40 ℃,在不同的时间取样获取低水分的样品;为了获取水分量较高的样品,将样品放入装有饱和 KNO₃ 溶液的干燥器中密封 4~5 d,保持 25 ℃,在不同的时间取样。普通红参的水分在 10% 左右,通过上述方法获取的样品水分为 3%~18%,总取样数为 40,随机分为 28 个样品的校正集和 12 个样品的验证集。

表 1 红参样品

Table 1 Samples of RGR

编号	枝数	类型	产地	编号	枝数	类型	产地
1	小货	普通红参	吉林抚松	12	80	边条红参	吉林抚松
2	16	普通红参	吉林抚松	13	切片	普通红参	青春宝提供
3	20	普通红参	吉林抚松	14	20	普通红参	吉林集安
4	30	普通红参	吉林抚松	15	16	边条红参	吉林临江
5	50	普通红参	吉林抚松	16	20	边条红参	吉林抚松
6	60	普通红参	吉林抚松	17	40	普通红参	吉林抚松
7	80	普通红参	吉林抚松	18	50	边条红参	吉林抚松
8	16	边条红参	吉林抚松	19	16	边条红参	吉林通化
9	30	边条红参	吉林抚松	20	16	普通红参	吉林集安
10	40	边条红参	吉林抚松	21	切片	普通红参	青春宝提供
11	60	边条红参	吉林抚松				

1.2 NIR 光谱采集:样品放入石英瓶中至瓶高度的一半左右,使用积分球漫反射附件采集。吸光度数据格式为:10 g (1/R),采集光谱范围:4 000~10 000 cm⁻¹,扫描次数:16,分辨率:8 cm⁻¹。每个样品采集 3 张光谱,取其平均光谱用于数据处理,每次扫描前振荡石英瓶。

1.3 参照方法:在 NIR 光谱分析后,立刻将石英瓶中的红参粉末转移到称量瓶中称质量,放入 105 ℃ 的烘箱中 5 h,在干燥器中冷却至室温后称质量。重复上述过程,直至恒重。

2 结果与讨论

2.1 原料鉴别:药材由于产地、气候、生长期、收获季节及储藏条件等的不同,会带来很多的变化^[6];因此,NIR 光谱库应包含足量的谱图以代表同一药材谱图多样性变化。本标准图谱库由 15 个来自不同产地样品的 NIR 光谱组成,以代表生产中使用原料批次不同引起的谱图变化。对库中谱图进行二阶导数(13 点 Savitzky-Golay 平滑)处理,可消除由偏移和漂移引起的光谱偏差,利于对样品的鉴别。原料鉴别所使用的谱图波长区间为 4 120~9 880 cm⁻¹,其他部分的噪音较大故去除。红参样品的 NIR 原始谱图及经过预处理后的谱图比较见图 1(左纵坐标为原始谱图坐标,右纵坐标为二阶导数光谱坐标)。

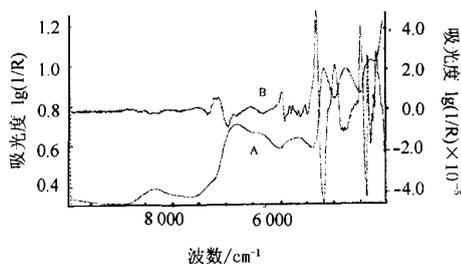


图 1 经二阶导数处理前(A)和处理后(B)的红参粉末 NIR 光谱

Fig. 1 NIR spectrum of RGR powder before (A) and after (B) second derivative treatment

将样品的光谱同建立好的标准光谱库进行比较,使用相似度匹配算法^[7]对样品进行鉴别。该算法对标准光谱进行 Gram-Schmidt 分析,得到的正交模型代表了所有标准光谱中全部数据点提供的的光谱信息。在对样品进行分析时,使用 Gram-Schmidt 模型将样品光谱中该模型包含的所有光谱信息去除得到样品的残差光谱。最后,将样品光谱同其残差光谱相比较得到“匹配值”。匹配值最大为 100,表示未知样品同光谱库样品的相似程度最高。通常将界限预设定为 95,一旦未知样品光谱的计算值超过此界限,该样品被认定为红参;否则,就不能将该原料用于生产。只有在鉴别通过后,才能将样品光谱用于定量模型进行水分的测定。

使用 6 个未参与建库的红参样品(#1~6,表 1 中编号为 16~21 号)、一个商陆样品(#7)及一个掺伪品(#8)对此标准光谱库的有效性进行验证,

见图 2。可以看出,尽管初始界限设定为 95,但所有红参样品的匹配值都在 98 以上,最终界限被设定为 98。

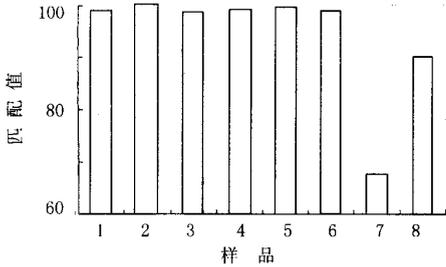


图 2 8 个验证样品的相似度计算结果

Fig. 2 Similarity calculation results of eight validated samples

2.2 水分分析:将 LOD 方法获得的水分数据同该样品的 NIR 光谱相关联,使用偏最小二乘 (PLS) 回归方法建立校正模型。应用相关光谱法^[7]对光谱图进行波长选择,相关光谱图见图 3。此方法通过在每个波长处计算相关系数的方法产生相关光谱,显示了不同波长处光谱信息与组分浓度间的相关程度。图 3 显示,两个光谱区域 (6 750~7 250 cm⁻¹和 4 900~5 400 cm⁻¹) 的相关系数值在 0.8 以上。此区域跟水分在 NIR 区的显著吸收峰 (5 120 和 6 850 cm⁻¹) 位置相重叠。从图 4 可以看出,这两个区域不同水分量的样品光谱差异非常明显,很适合用于水分的定量分析。因此,本研究中使用这两个波长区间建立水分的 NIR 光谱校正模型。

样品物理性质的不同会引起光谱基线和斜率的变化,

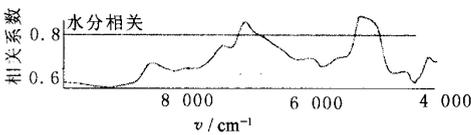
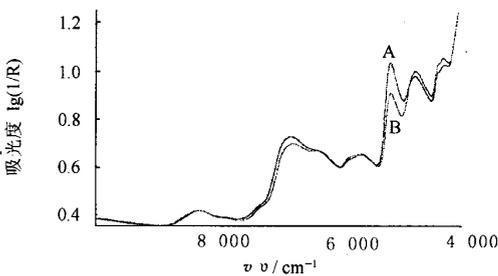


图 3 水分分析的相关光谱

Fig. 3 Correlative spectrum for moisture analysis



A-14.0% B-7.0%

图 4 不同水分量的红参粉末 NIR 光谱

Fig. 4 NIR spectrum of RGR powder with different moisture contents

变化,一般在建立校正模型前需要采用化学计量方法对 NIR 谱图进行预处理以消除这些影响。多重散射校正 (multiplicative scatter correction, MSC) 方法用于消除多重光谱偏差;二阶导数方法可以最大程度地降低光谱峰的偏移和漂移,通常使用 Savitzky-Golay 方法对二阶导数光谱进行平滑处理;标准正则变换 (standard normal variate, SNV) 技术可以有效降低不必要的光谱贡献以利于分析信号的解析,且不会像导数方法一样产生噪声信号。本实验对多种不同预处理方法 (MSC, 二阶导数, SNV) 进行了比较以寻找最佳方法,使用的波长区域为使用相关光谱所确定的区间。留一法交叉验证的相关系数 (R) 及其均方差 (RMSECV) 用来考察校正模型的性能。从表 2 可以清楚地看出,最适合此模型的预处理方法为 MSC。

表 2 不同预处理方法的校正模型结果

Table 2 Performance of calibration model with different pretreatment methods

预处理方法	R	均方差
无	0.994 3	0.422
MSC (多重散射校正)	0.999 3	0.149
2nd ¹ (二阶导数)	0.997 2	0.297
SNV (标准正则变换)	0.999 2	0.154

¹ Savitzky-Golay 二阶导数法使用 13 点平滑

¹ Savitzky-Golay second derivative using 13 data points

在波长范围为 6 750~7 250 cm⁻¹和 4 900~5 400 cm⁻¹的区间,经 MSC 预处理后,使用 PLS 建立了最优的校正模型,其中使用的因子数为 8,结果见图 5。校正模型的相关系数达到了 0.999 7,校正集均方差 (RMSEC) 为 0.106,验证集预测均方差 (RMSEP) 则为 0.133。

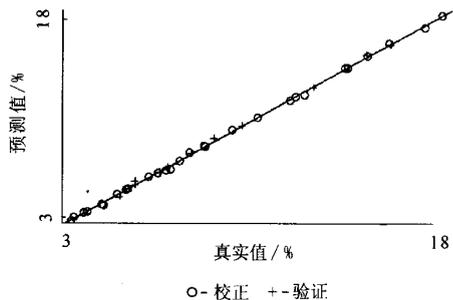


图 5 NIR 预测值与真实值之间的相关图

Fig. 5 Correlative plot of moisture contents obtained by reference method vs values predicted by NIR

3 结论

本实验使用 NIR 光谱定性鉴别红参药材并测定其水分的量,通过实验发现,NIR 光谱可以精确、

快速、无损、有效地对红参药材质量进行评价。该方法只需要简单的样品处理,同传统方法相比,如HPLC、LOD等,可以节省大量的分析时间和花费。随着标准样品的不断扩大,建立的标准光谱库不断完善,建立的NIR光谱药材质量评价方法可用于中药生产企业的原料药材质量控制。

References:

- [1] *Ch P* (中国药典) [S]. Vol. 1. 2000.
 [2] Zhang C, Wang Z H, Jin D Z. Comparative study on HPLC-FPS of Chinese red ginseng and Korean ginseng [J]. *Chin Tradit Pat Med* (中成药), 2001, 23(3): 160-163.
 [3] Ren G X, Chen F. Determination of moisture content in gin-

seng by near-infrared reflectance spectroscopy [J]. *Food Chem*, 1997, 60: 433-436.

- [4] Berntsson O, Zackrisson G, Ostling G. Determination of moisture in hard gelatin capsules using near-infrared spectroscopy; application to at-line process control of pharmaceuticals [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 1997, 15: 895-900.
 [5] Woo Y A, Kim H J, Cho J H. Identification of herbal medicines using pattern recognition techniques with near-infrared reflectance spectra [J]. *Microchem J*, 1999, 63: 61-70.
 [6] Lassonen M, Harmai-Pulkkinen T, Simard C L, et al. Fast identification of *Echinacea purpurea* dried roots using near-infrared spectroscopy [J]. *Anal Chem*, 2002, 74(11): 2493-2499.
 [7] McCarthy W J. *TQ Analyst User's Guide* [M]. Madison, WI: Thermo Nicolet Corp, 2000.

微波辐射对菘蓝种子生理及幼苗发育的影响

陈怡平^{1,2}

(1. 西安工程科技学院 生物工程系, 陕西 西安 710048; 2. 中国科学院地球环境研究所, 陕西 西安 710075)

摘要:目的 研究微波辐射对菘蓝 *Isatis indigotica* 种子萌发率、淀粉酶、蛋白酶及幼苗发育的影响。方法 用微波辐射浸泡 3 h 的菘蓝种子。结果 4 种不同时间长度的处理均可以提高淀粉酶、蛋白酶活性, 促进种子生理代谢, 提高发芽率及促进幼苗发育。结论 低剂量微波辐射能促进菘蓝种子萌发和幼苗生长发育。

关键词: 菘蓝; 微波; 幼苗发育

中图分类号: R282.21

文献标识码: A

文章编号: 0253-2670(2005)06-0915-03

Influence of microwave radiation pretreatment on physiology and seedling development in *Isatis indigotica* seeds

CHEN Yi-ping^{1,2}

(1. Department of Bioengineering, Xi'an University of Engineering and Technology, Xi'an 710048, China;

2. Institute of Earth Environment, Chinese Academy of Sciences, Xi'an 710075, China)

Key words: *Isatis indigotica* Fort.; microwave; seedling development

菘蓝 *Isatis indigotica* Fort. 是我国常用传统中药板蓝根、大青叶的主要来源。板蓝根和大青叶中含有靛蓝及靛玉红等多种生理活性成分, 具有清热、凉血、消斑之功效^[1]。而微波在植物上的应用已有报道, 适宜剂量的微波辐射可以提高种子的萌发率^[2~5], 促进黄瓜成花生理代谢, 增加花的数量^[6]。本研究采用微波炉预处理菘蓝种子, 对其种子萌发率、子叶淀粉酶和蛋白酶活性以及幼苗发育状况进行了研究, 试图了解微波预处理菘蓝种子对生物学作用, 为提高板蓝根和大青叶产量提供理论基础。

1 材料与方

1.1 材料: 以菘蓝为实验材料, 菘蓝种子为西安交通大学药学院提供并经王军宪教授鉴定。

1.2 方法

1.2.1 微波辐射预处理: 菘蓝种子用清水浸泡 3 h 后, 自然晾干, 然后再用 2 450 MHz 微波炉 (Combi-Grill Microwave Oven WD700) 分别辐照种子的胚 3、8、13、18 s, 剂量为 126 mW/cm²。

1.2.2 种子萌发: 实验设对照 (CK), 3 s 微波处理组, 8 s 微波处理组, 13 s 微波处理组, 18 s 微波处理组。选取籽粒饱满, 大小均匀的菘蓝种子进行微波处理, 种子表面经 0.05% 升汞消毒, 然后播种于花

收稿日期: 2004-08-11

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (30370269)

作者简介: 陈怡平 (1968—), 男, 陕西人, 博士, 教授, 在国内外发表论文 20 余篇, 其中在国际 SCI 源期刊上发表论文 3 篇。目前在中国科学院地球环境研究所做博士后研究工作, 主要从事环境生物学和环境毒理学方面的研究。

E-mail: polyway@eyou.com