

基于近红外光谱技术快速定性鉴别广陈皮模型的建立

闫珂巍, 王 福, 梅国荣, 卢俊宇, 张 岚, 付桂兰, 陈 林, 刘友平, 陈鸿平*

成都中医药大学药学院 中药材标准化教育部重点实验室 四川省中药资源系统研究与开发利用重点实验室, 四川 成都 611137

摘要: 目的 采用近红外光谱技术(NIRS)建立广陈皮的定性分析模型,以建立快速鉴别广陈皮药材的方法。方法 采集广陈皮与川陈皮的NIRS图,通过标准正交变量变换(SNV)预处理后采用聚类分析方法建立广陈皮与川陈皮鉴别模型,并进行模型内验证和模型外验证,建立了广陈皮定性分析模型。结果 在 $4\ 000\sim 10\ 000\ \text{cm}^{-1}$ 广陈皮和川陈皮能够较好地区分,内部验证的准确率高达100%,外部验证准确率达到90.91%。结论 采用近红外光谱技术对广陈皮样品进行鉴别是可行的。

关键词: 近红外光谱技术; 广陈皮; 定性鉴别; 川陈皮; 聚类分析

中图分类号: R282.5 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2015)20-3096-04

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2015.20.023

Application of near infrared spectroscopy in identification of *Citrus reticulata*

YAN Ke-wei, WANG Fu, MEI Guo-rong, LU Jun-yu, ZHANG Lan, FU Gui-lan, CHEN Lin, LIU You-Ping, CHEN Hong-ping

College of Chinese Materia Medica, Chengdu university of TCM, Chengdu 611137, China

Abstract: Objective To establish the qualitative analysis model for Guang *Citrus Reticulata Pericarpium* (GCRP) using near infrared spectroscopy, so as to establish a rapid method to identify GCRP. **Methods** After collecting the near-infrared spectra of GCRP and Chuan *Citrus Reticulata Pericarpium* (CCRP), standard orthogonal variable transformation (SNV) was used as pretreatment and cluster analysis method was used to establish identification models. The model validation and external validation were made, and a GCRP analysis model was established using near-infrared spectroscopy technology. **Results** In wavelength range of $4\ 000\text{--}10\ 000\ \text{cm}^{-1}$, GCRP was able to be distinguished. The accuracy rate of internal validation was 100% and the accuracy rate of external validation was 90.91%. **Conclusion** It is feasible to identify GCRP samples by near infrared spectroscopy technique.

Key words: near infrared spectroscopy technology; Guang *Citrus Reticulata Pericarpium*; qualitative analysis; Chuan *Citrus Reticulata Pericarpium*; cluster analysis

陈皮来源于芸香科植物橘 *Citrus reticulata* Blanco 及其栽培变种的干燥成熟果皮,具有理气健脾、燥湿化痰之功效^[1]。药材分为陈皮和广陈皮。广陈皮,即产于广东,来源于芸香科植物行柑 *C. reticulata* Blanco cv. *hanggan* 和茶枝柑 *C. reticulata* *chachi*,其中以广东新会陈皮质量最好;产自江西、四川、福建一带的则称之为“川陈皮”,来源为温州蜜柑 *C. reticulata* ‘Unshiu’、大红袍 *C. reticulatae* *dahongpao*、福橘 *C. reticulata* *tangerina* 等^[2]。广陈皮与川陈皮为栽培品,但由于产地不同,在临床上

功效也有一定的差异,广陈皮较好,川陈皮则次之。因广陈皮质优价高,市场上出现大量混伪品冒充道地药材广陈皮,因此有必要建立广陈皮快速简便的鉴别方法。

近红外光谱(NIRS)技术是近年来发展迅速的一项光谱分析技术,以其快速、准确、绿色、无损的优点,已广泛应用于各行各业,包括制药、食品、农业、工业生产等领域,在中药的鉴别中也有一定的应用。有学者应用NIRS技术对麦冬^[3]、连翘^[4]、红参^[5]等药材的产地进行鉴别,取得满意的结果。本实验拟

收稿日期: 2015-02-19

基金项目: 四川省教育厅自然科学项目(132130316); 四川省科技厅项目(2015JY0012)

作者简介: 闫珂巍(1990—),女,硕士在读,研究方向为中药化学成分与质量标准。

Tel: (028)61800103 Fax: (028)61800103 E-mail: ykw135267@126.com

*通信作者 陈鸿平,女,高级实验师,主要从事中药质量标准化工作。Tel/Fax: (028)61800103 E-mail: chen.hongping@126.com

采用 NIRS, 结合多种化学分析方法对陈皮药材进行分析, 以从药材的整体信息进行判别, 建立“广陈皮”药材的 NIRS 鉴别模型, 为中药材的快速鉴别提供示范, 同时为陈皮品质评价的新方法提供参考。

1 仪器与药材

1.1 仪器

NIR Flex N-500 型近红外光谱仪, 石英玻璃样品池、样品旋转器漫反射积分球、NIRcal 5.4 数据处理软件 (Buchi Labortechnik AG 公司)。

1.2 药材

17 批次不同贮藏年限的广陈皮, 8 批采集于四川青白江和金堂的川陈皮, 经成都中医药大学药学院卢先明教授分别鉴定为芸香科植物茶枝柑 *Citrus reticulata* chachi 和大红袍 *Citrus reticulatae* dahongpao。25 批样品具体信息见表 1。

表 1 25 批样品信息

Table 1 Sample information of 25 batches of samples

编号	产地	药材	采集时间
4-A	广东新会	广陈皮	2011-10
4-B	广东新会	广陈皮	2011-10
4-C	广东新会	广陈皮	2011-10
4-D	广东新会	广陈皮	2011-10
4-E	广东新会	广陈皮	2011-10
6-A	广东新会	广陈皮	2011-10
6-B	广东新会	广陈皮	2011-10
6-C	广东新会	广陈皮	2011-10
7-A	广东新会	广陈皮	2011-10
7-B	广东新会	广陈皮	2011-10
7-C	广东新会	广陈皮	2011-10
8-A	广东新会	广陈皮	2011-10
8-B	广东新会	广陈皮	2011-10
8-C	广东新会	广陈皮	2011-10
9-A	广东新会	广陈皮	2011-10
9-B	广东新会	广陈皮	2011-10
9-C	广东新会	广陈皮	2011-10
CCP-1	四川青白江	川陈皮	2013-11-14
CCP-2	四川青白江	川陈皮	2013-11-14
CCP-3	四川青白江	川陈皮	2013-11-29
CCP-4	四川青白江	川陈皮	2013-11-29
CCP-5	四川青白江	川陈皮	2013-11-14
CCP-6	四川青白江	川陈皮	2013-11-14
CCP-7	四川青白江	川陈皮	2013-11-29
CCP-8	四川青白江	川陈皮	2013-11-29

2 方法与结果

2.1 图谱的采集

将陈皮药材于 60 °C 烘干 3 h, 粉碎, 过 80 目筛, 置石英样品杯中, 装样量均为 8 g 左右。采集条件: 分辨率 8 cm⁻¹, 扫描次数 64 次, 扫描范围 4 000~10 000 cm⁻¹[6], 每个样品重复装样并扫描 3 次, 每次扫描前摇荡石英杯, 使样品均匀平整。25 批陈皮样品的 NIRS 图叠加见图 1。

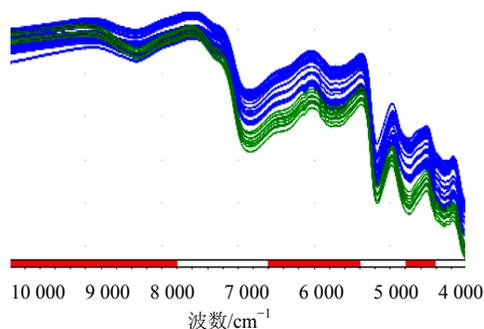


图 1 25 批陈皮样品原始光谱图

Fig. 1 Original spectra of 25 batches of *Citrus Reticulata* Pericarpium

2.2 NIRS 模型的建立

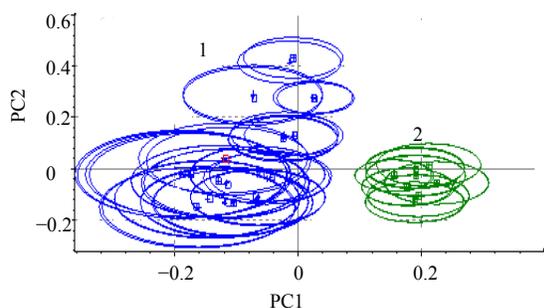
在 NIRcal 里导入 25 批已采集好的 75 条光谱, 按 2:1 的比例划分样品的定标集 (C-set) 和验证集 (V-set), 分配完成后, 采用 NIR Flex N-500 型近红外光谱仪自带的 NIRcal 5.4 数据处理软件进行自动建模, 系统自动对选中光谱进行标准化处理和微分计算, 去除对聚类分析图谱贡献小的因素, 建立相应的数学模型, 并用模型内的光谱进行验证。NIRcal 5.4 数据处理软件自动进行了 60 次计算, 根据综合评价指标 (Q 值) 选出最优模型, 结果见表 2。

NIRS 法建模时常用的预处理方法有标准正态变换 (SNV)、一阶导数 (db1)、标准化 (ncl)、多元散射校正 (mf) 等^[7-10]。由表 2 可知, 最佳建模结果为选取 4 400~4 800、5 400~6 600、7 800~10 000 cm⁻¹ 3 个波段的图谱, 对原始光谱进行 SNV 标准化处理, 并使用 db1 处理。

由图 2 可以很明显地看出, 通过 NIR, 采用聚类分析方法, 可将广陈皮和川陈皮药材进行区分。图 2 中的横坐标表示主成分 1 (PC1) 的得分值, 纵坐标表示主成分 2 (PC2) 的得分值, 广陈皮和川陈皮样品明显地聚类为互相独立的 2 组。证明广陈皮和川陈皮在 PC1 和 PC2 上信息的载荷量有明显的差异, 因此可以区分。由主成分 1、2、3 构成的三维图见图 3。

表 2 最优模型
Table 2 Optimal models

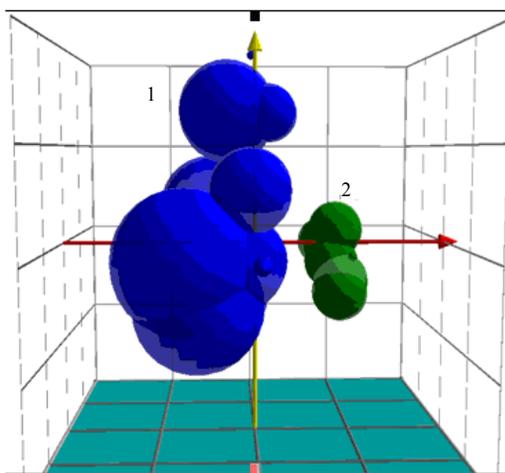
Q 值	主成分数	波长比例/%	选取波段/cm ⁻¹	计算方法
0.906 9	6	63	4 400~4 800、5 400~6 600、7 800~10 000	Cluster、SNV、db1
0.887 4	3	79	5 000~7 144、7 404~10 000	Cluster、db1、ncl
0.883 6	7	100	4 000~10 000	Cluster、mf
0.882 0	3	83	5 000~10 000	Cluster、db1、ncl
0.847 5	5	100	4 000~10 000	Cluster、ncl、db1
0.793 1	3	63	4 400~4 800、5 400~6 600、7 800~1 000	Cluster、n01、db1
0.846 0	5	100	4 000~10 000	Cluster、SNV、db1
0.803 0	5	79	5 000~7 144、7 404~10 000	Uster、SNV、db1
0.793 1	3	83	5 000~10 000	Cluster、SNV、db1
0.781 5	3	100	4 000~10 000	Cluster、db1



1-广陈皮 2-川陈皮
1-*C. reticulata* chachi 2-*C. reticulatae* dahongpao

图 2 广陈皮与川陈皮的主成分二维得分图

Fig. 2 Two dimensional principal component scoring chart of GCRP and CCRP



1-广陈皮 2-川陈皮
1-*C. reticulata* chachi 2-*C. reticulatae* dahongpao

图 3 广陈皮与川陈皮的主成分三维图

Fig. 3 3D principal component scoring chart of GCRP and CCRP

2.3 NIRS 的验证

为检测模型的预测性能，对建立的模型进行内部验证和外部验证。用验证集样品对所建模型进行评价验证（即内部验证）。扫描的光谱进行预处理后可用属性残差来表示光谱的聚类效果，当属性残差为 0 时，证明所有光谱聚类正确，若属性残差为 1，证明有 1 条光谱聚类错误，属性残差为 +1 时证明有 1 条光谱离得较远，没有被模型识别。广陈皮与川陈皮的模型中，验证集和校正集光谱全部均被正确聚类，光谱属性残差都为 0，内部验证的准确度为 100%。

外部验证时，采用模型外的 11 批同采自广东新会的广陈皮药材进行外部验证。11 个陈皮验证样品中有 1 个被错判，准确率达 90.91%，表明模型预测性能较好。

3 讨论

本实验使用 N-500 型近红外光谱仪时，评价所建立模型效果的综合指标为 Q 值，Q 值大小在 0~1，越接近于 1 证明所建立的模型聚类效果越好，分离度高。因此选择 Q 值最高的模型建立的方法，选取 4 400~4 800、5 400~6 600、7 800~10 000 cm⁻¹ 3 个波段的图谱，采用 SNV 标准化处理和 db1 处理，建立了广陈皮的定性鉴别模型。

3.1 NIR 的预处理分析

被测样品中含有的无关因素往往会干扰近红外光谱，因此对光谱进行预处理是至关重要的。本实验通过 NIRcal 5.4 数据处理系统自动计算后得到的最优预处理方法为 SNV 标准化处理（标准正交变量变换），然后采用 db1 对其进行求导，与原始光谱（广陈皮与川陈皮的原始光谱见图 1）相比

较, 经过预处理后的光谱图峰形更加尖锐、图形特征更加明显。

其中在波数 $4\ 000\sim 4\ 200\ \text{cm}^{-1}$ 内为-C-H和-C=C-伸缩振动的组合频; $4\ 329\sim 4\ 587\ \text{cm}^{-1}$ 波数内为-N-H和-C=O键伸缩振动的组合频; $4\ 739\sim 5\ 102\ \text{cm}^{-1}$ 为-N-H不对称的伸缩振动和酰胺基的组合频; $5\ 200\sim 5\ 400\ \text{cm}^{-1}$ 为-O-H的伸缩振动和-C=O键的倍频吸收; $6\ 800\sim 7\ 200\ \text{cm}^{-1}$ 为-OH伸缩振动的第一谐波。新会广陈皮含有其他产地陈皮挥发油中不具有的2-甲氨基-苯甲酸甲酯成分^[11], 其化学键的吸收范围与此波段吻合。

3.2 主成分分析(PCA)

PCA是一种重要的聚类分析方法, 在NIRcal 5.4数据处理软件中, 采用PCA对广陈皮与川陈皮进行分析, 得到良好的聚类分析图形, 以广陈皮和川陈皮的光谱信息为变量, 对光谱信息进行降维处理, 使低维(二维或三维)空间就能表示多维空间的大部分信息^[10]。

一般使用预测残方差和确定最佳主成分数, 随着主成分数的增加, 呈递减趋势, 达到最低点并与主成分轴相切时即为最佳主成分。广陈皮与川陈皮建立的模型最佳主成分数为6, 即表示主成分数为6时能囊括光谱大部分的有用信息。

本实验采用NIRcal 5.4数据处理软件自动建模, 能快速地筛选出最优模型, 建立了广陈皮药材的定性鉴别模型。结果表明广陈皮与川陈皮能够被聚为两类, 采用NIR对产自广东、四川的陈皮药材进行鉴别结果较为满意。目前对中药的质量控制, 主要检测药材的有效成分或指标性成分, 陈皮的药效成分主要包括挥发油类、黄酮类、生物碱类、多糖类等^[12], 有报道表明广陈皮茶枝柑比其他品种陈皮挥发油及橙皮苷量高^[13-14], 但这些差异是否就是广陈皮药效好的原因还未定论, 有待进一步研究。本实验采用NIRS, 可以对陈皮的整体信息进行判别, 更全面地评价中药材质量。

由于陈皮是多产地植物来源的中药材, 不同产地的陈皮质量参差, 采用NIR可对其进行快速的鉴

别。本实验所用的陈皮药材数量较少, 不能囊括陈皮药材的所有信息, 因此鉴定结果还不能达到100%的准确, 还需要收集更多不同产地有代表性的样品补充到模型中, 增加模型的稳定性和预测性能, 以便将NIRS运用于生产中快速、准确地鉴别陈皮。

参考文献

- [1] 中国药典[S]. 一部. 2010.
- [2] 陈封怀. 广东植物志(第2卷)[M]. 广州: 广东科学技术出版社, 1991.
- [3] 余国梅, 王 苹, 张延莹, 等. 近红外光谱技术鉴别麦冬药材产地[J]. 解放军药学学报, 2012, 28(5): 451-453.
- [4] 张晓慧, 刘建学. 近红外光谱技术鉴别连翘产地[J]. 激光与红外, 2008, 38(4): 343-344.
- [5] 王钢力, 聂黎行, 张 继, 等. 应用近红外光谱技术鉴别红参药材[J]. 中草药, 2008, 39(3): 438-440.
- [6] 郭念欣, 蔡佳良, 姬生国, 等. 近红外光谱技术在陈皮道地性分析中的应用[J]. 中国药房, 2013, 24(15): 1394-1395.
- [7] 史春香, 杨悦武, 郭治昕, 等. 近红外技术鉴别黄芪产地[J]. 天津药学, 2006, 18(1): 19-21.
- [8] 黄 艳, 王锡昌, 邓德文. 利用近红外光谱技术快速测定白鲢鱼糜中的水分含量[J]. 食品工业科技, 2008, 29(2): 282-284.
- [9] 谢彩霞, 左春芳, 白 雁, 等. 近红外光谱技术快速测定 顿也薯蓣中伪原薯蓣皂苷的含量[J]. 中国药房, 2013, 24(15): 1396-1398.
- [10] 魏惠珍, 张五萍, 毛红梅, 等. 近红外光谱法在白芍提取物纯化过程中快速质量控制研究[J]. 中草药, 2013, 44(9): 1128-1133.
- [11] 周 欣, 黄庆华, 廖素媚, 等. 不同产地陈皮挥发油的对比分析[J]. 今日药学, 2009, 19(4): 43-45.
- [12] 李庆耀, 梁生林. 陈皮的药用研究进展[J]. 中成药, 2008, 30(2): 246-248.
- [13] 刘文燊, 王玫馨, 黄爱东, 等. 广陈皮化学成分的比较研究 I: 挥发油的成分研究[J]. 中药材, 1991, 14(3): 33-36.
- [14] 吴榛青, 叶 莹, 张 俊. HPLC测定不同产地陈皮橙皮苷的含量[J]. 中国现代中药, 2008, 10(8): 20-22.