

近红外光谱法快速鉴别市售不同厂家生产的藿胆丸[△]

蔡佳良^{1*}, 姬生国^{2#} (1. 广州市医药职业学校, 广州 510430; 2. 广东药学院中药学院, 广州 510006)

中图分类号 R284.1 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2014)47-4458-03
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2014.47.14

摘要 目的: 建立快速鉴别市售不同厂家生产的藿胆丸的方法。方法: 采用近红外光谱法。采集7个厂家的藿胆丸样品的近红外光谱, 并用判别分析方法和聚类分析方法分别对数据进行分析。结果: 聚类分析中, 当类间距离为0.64时, K厂家和G厂家样品首先聚为一类, 当类间距离为1.84时, 其他5个厂家样品自成一类; 所建立的判别分析模型错判例数为0, 判别分析准确率为100%。结论: 所建立的近红外光谱法可以快速、准确、无损地对不同厂家生产的藿胆丸制剂进行定性分析。

关键词 近红外光谱法; 藿胆丸; 判别分析; 聚类分析

Rapid Identification of Huodan Pills from Different Manufacturers by Near Infrared Spectroscopy

CAI Jia-liang¹, JI Sheng-guo² (1. Guangzhou Pharmaceutical Vocational School, Guangzhou 510430, China; 2. College of TCM, Guangdong Pharmaceutical University, Guangzhou 510006, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To establish the method for rapid identification of Huodan pills from different manufacturers. METHODS: The near infrared spectroscopy (NIRS) was adopted. Near infrared spectrum of Huodan pills from 7 manufacturers were collected and analyzed by discriminative analysis and cluster analysis. RESULTS: None of erroneous judgement was found in established discriminative analysis model, and accuracy rate of discriminative analysis was 100%. In cluster analysis, when between class distance was 0.64, the samples from manufacturer K and G were classified as same class firstly; when between class distance was 1.84, the samples from other 5 manufacturers were classified as same class. CONCLUSIONS: NIRS method is rapid, accurate and nondestructive, and can be used for qualitative analysis of Huodan pills from different manufacturers.

KEYWORDS Near infrared spectroscopy; Huodan pills; Discriminant analysis; Cluster analysis

中药及中成药的真伪优劣直接影响药物的实际疗效^[1-2]。笔者在对藿胆丸的前期研究中发现, 不同厂家生产的藿胆丸中百秋李醇的含量存在较大差异^[3]。为进一步对不同厂家生产的藿胆丸进行质量评价和归类, 本研究拟采用近红外光谱技术, 结合判别分析方法识别法和聚类分析法对光谱数据进行分析, 以为市场上藿胆丸的快速识别以及伪劣产品的筛查提供可靠的分析手段^[4-5]。

1 材料

1.1 仪器

Nicolet 6700型傅立叶变换近红外光谱仪, 配有漫反射积分球、样品旋转器、石英样品杯、OMNIC 光谱采集软件和TQ 8.0分析软件(美国Thermo Nicolet公司); The Unscrambler X 10.2化学计量学软件; LK-400型高速中药粉碎机(浙江温岭市创力药材器械厂)。

1.2 药品

本研究所用藿胆丸样品来源于7个不同生产厂家, 共80批(编号为: W_{1~30}, H_{1~30}, J_{1~8}, G_{1~3}, D_{1~3}, K_{1~3}, Y_{1~3})。

2 方法

取同一批号的藿胆丸两瓶, 混合粉碎, 过80目筛, 取样品粉末各4g, 混合均匀后放入石英样品杯中, 轻轻振摇使分布均

匀。采用积分球漫反射测样, 分辨率为8 cm⁻¹, 扫描64次, 扫描范围为12 000~4 000 cm⁻¹, 温度为(10±2) °C, 相对湿度为40%~45%。每批样品重复装样并扫描5次, 80批样品的近红外光谱叠加图见图1。

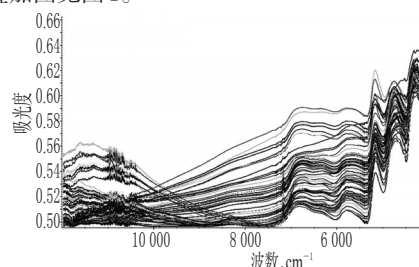


图1 80批藿胆丸的近红外光谱叠加图

Fig 1 Superposition graph of near infrared spectra of 80 batches of Huodan pills

由图1可见, 不同厂家生产的藿胆丸的近红外光谱图有一定差异, 但大部分样品的光谱图仍然较为重叠, 很难从肉眼上对不同样品的近红外光谱进行准确分辨, 因此需要用判别分析法或者聚类分析法对这些光谱数据进行分析。

3 结果与分析

3.1 聚类分析

3.1.1 聚类分析的光谱预处理 本研究所用样品虽已粉碎并过80目筛, 但不同样品粉末其粒径仍然存在一定差异, 且不同厂家样品的颜色也有所差别, 因此在聚类分析之前须对光谱进行预处理。本研究将80批样品的平均光谱图导入The Unscrambler X 10.2化学计量学软件中, 分别比较了一阶导数

△ 基金项目: 广东省科技计划项目(No.2009B030801044)

* 硕士研究生。研究方向: 中药质量分析。电话: 020-86419166。E-mail: jialiing_cai@163.com

通信作者: 教授, 博士。研究方向: 中药资源、中药质量标准及中药新药。电话: 020-39352327。E-mail: shengguo_ji@163.com

法(FD)、多元散射校正法(MSC)和标准正态变量变换法(SNV)等多种预处理方法及其组合对聚类分析结果的影响,最终选择了FD+SNV预处理方法作为聚类分析的光谱预处理方法。

3.1.2 聚类分析结果 80批样品的近红外光谱数据经预处理后,采用主成分分析法从全波长中提取出10个主成分,用Ward's算法对该10个主成分进行聚类分析,计算样品间的类间距离。聚类分析的树状图见图2。

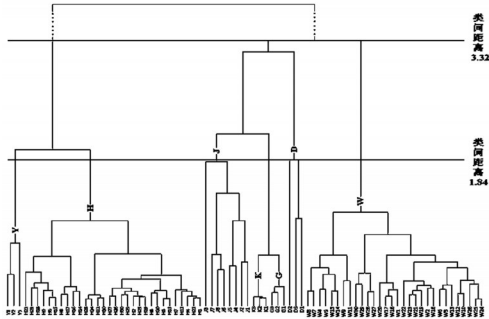


图2 80批藿胆丸样品的聚类分析树状图

Fig 2 Dendrogram from cluster analysis of 80 batches of Huodan pills

由图2可以看出,当类间距离为0.64时,K厂家和G厂家的样品首先聚为一类,当类间距离为1.84时,其他5个厂家样品自成一类;当类间距离达到1.96时,Y、H厂家聚为一大类;当类间距离达到3.32时,J、K、G、D和W厂家样品聚为一大类,最终所有样品聚为两类。

3.2 判别分析

3.2.1 建模样品的选择 判别分析模型建立时,首先需要将所有样品分为校正集样品集和验证集样品集两类,校正集用于模型的建立,验证集用于模型建立后的验证^[6-7]。分别从W、H、J厂家样品中均匀选取10、10、3份样品组成验证集(由于本研究收集到的D、G、K、Y厂家样品数量较少,故没有从这些厂家样品中挑选验证用样品),余下的57份样品作为校正集样品集建立模型。

3.2.2 建模波长的选择 将80份样品的光谱数据导入The Unscrambler X 10.2化学计量学软件,用MSC法预处理光谱,选择全波长进行主成分分析,得到样品在前3个主成分上的分布图,详见图3。

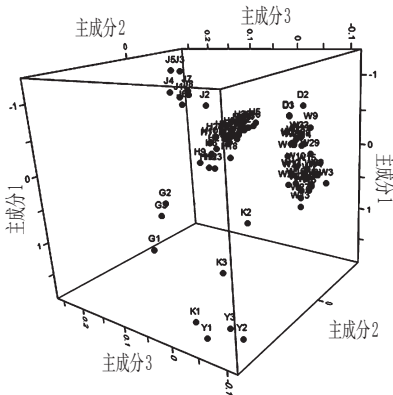


图3 80批藿胆丸样品在前3个主成分上的分布

Fig 3 Distribution of batches of 80 batches of Huodan pills by the first 3 principal components

由图3可见,D厂家与W、H厂家,K厂家与Y厂家的距离较近,容易产生误判。为了提高模型的稳定性和耐用性,建模波长的选择应该以D到W、D到H、Y到K的距离以及错判例数为指标,当距离越大,错判例数越少,说明该模型越稳定、可靠。本研究根据各厂家样品的光谱图特征,分析了不同建模波数对模型评价指标的影响,最终选择4 500~9 000 cm⁻¹作为最优的建模波数,详见表1。

表1 不同建模波数对模型评价指标的影响

Tab 1 Effect of different wave number on the evaluation index of model

建模波数,cm ⁻¹	欧氏距离				错判例数,个
	W厂家到H厂家	D厂家到W厂家	D厂家到H厂家	Y厂家到K厂家	
4 000~12 000	3.845	2.802	4.288	4.507	0
5 000~10 000	4.703	3.207	4.175	5.126	0
4 500~9 000	4.950	3.030	4.299	5.614	0
4 000~6 000	4.787	2.999	4.485	4.634	0
6 000~12 000	3.667	2.925	3.790	4.048	0

3.3 判别分析的光谱预处理

在建立近红外判别分析模型时,常有必要对样品的原始吸收光谱进行光谱预处理,以消除受样品颗粒大小及颜色差异等因素带来的噪声和基线漂移^[8]。常规的光谱预处理方法有:MSC、SNV、FD、二阶导数法(SD)、SG平滑法、ND平滑法等。本研究采用常规的预处理方法及其组合对光谱图进行预处理,以不进行预处理的方法为对比,选择4 500~9 000 cm⁻¹之间的光谱区域建立判别分析模型,以D厂家到W厂家、D厂家到H厂家、Y厂家到K厂家的平均距离以及错判例数为评价指标,优选最佳的光谱预处理方法,最终选择了SNV+FD+ND平滑法作为最佳预处理方法组合。不同预处理方法对模型评价指标的影响见表2。

表2 不同预处理方法对模型评价指标的影响

Tab 2 Effect of different pretreatment on the evaluation index of model

预处理方法	欧氏距离				错判例数,个
	W厂家到H厂家	D厂家到W厂家	D厂家到H厂家	Y厂家到K厂家	
Constant	3.388	3.673	4.158	1.882	1
MSC	4.950	3.030	4.299	5.614	0
SNV	5.157	2.898	4.714	5.480	0
FD+SG平滑法	4.146	2.710	3.509	3.217	0
FD+ND平滑法	5.219	2.815	3.833	4.136	0
SD+SG平滑法	3.244	1.872	3.178	2.114	10
SD+ND平滑法	4.716	2.960	3.424	3.424	0
MSC+FD+SG平滑法	4.254	2.677	4.769	4.371	0
MSC+FD+ND平滑法	4.981	2.472	4.552	4.745	0
MSC+SD+SG平滑法	2.864	2.105	3.711	4.008	6
MSC+SD+ND平滑法	4.436	2.806	4.482	4.850	0
SNV+FD+SG平滑法	4.640	2.976	4.861	3.979	0
SNV+FD+ND平滑法	5.419	2.941	4.468	4.670	0
SNV+SD+SG平滑法	3.571	2.143	4.005	3.878	11
SNV+SD+ND平滑法	4.944	3.061	4.697	4.739	0

3.4 主成分数的选择

主成分数的选择关系到所建立判别模型的准确性,由于近红外光谱包含的数据庞大,在数据分析中,常需对样品的近红外光谱数据进行主成分分析,然后选择前若干个主成分建立模型^[9]。本研究选择上述最佳光谱区域和最佳预处理方法建立判别分析模型,以错判例数作为模型的评价指标,当模型

的错判例数不再增加时,对应的主成分个数即为最佳主成分数。本研究中,当主成分数为5时,主成分的累积贡献率达到98.3%,判错例数为0,且随着主成分数的增加,错判例数并没有增加,表明采用前5个主成分建立判别模型,可对验证集样品进行准确判别。主成分数对判别分析结果的影响见表3。

表3 主成分对判别分析结果的影响

Tab 3 Effect of principal components on the discriminant analysis result

主成分	累积贡献率, %	错判例数, 个
主成分1	78.9	51
主成分2	91.1	18
主成分3	94.4	2
主成分4	97.2	1
主成分5	98.3	0
主成分6	98.9	0
主成分7	99.1	0
主成分8	99.3	0
主成分9	99.4	0
主成分10	99.5	0

3.5 判别分析模型的建立

本研究采用SNV+FD+ND平滑法对原始光谱进行预处理,选择4 500~9 000 cm^{-1} 之间的光谱区域进行主成分分析,选择前5个主成分建立藿胆丸的判别分析模型,该模型错判例数为0,判别分析准确率达到100%。不同厂家藿胆丸样品判别分析结果见图4。

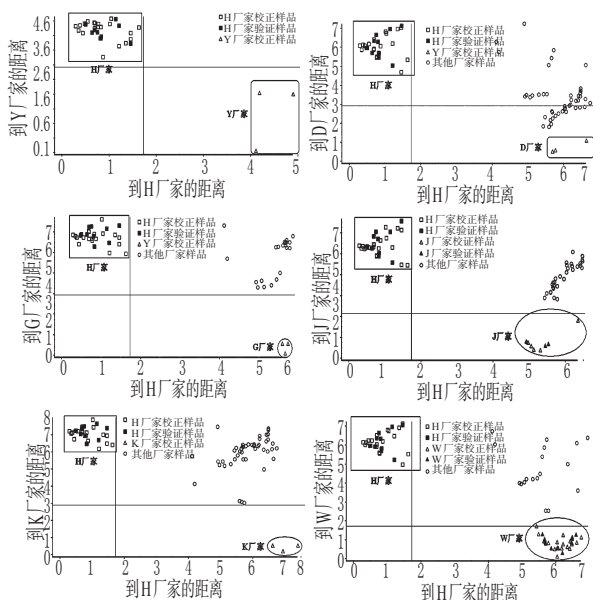


图4 不同厂家藿胆丸样品判别分析结果

Fig 4 The discriminant analysis result of Huodan pills from different manufacturers

3.6 判别分析模型的验证

取不参与建模的23份藿胆丸样品对判别分析模型进行外部验证。将23份样品的平均近红外光谱图导入已建立的判别分析模型中进行计算,判别分析结果准确率达到100%,判别结果见表4。

4 讨论

本研究建立的聚类分析方法可以对7个厂家的藿胆丸样品进行准确归类,判别分析模型可以对未知的样品进行准确

表4 验证集样品的判别分析结果

Tab 4 The discriminant analysis result of validation set samples

样品号	判别厂家	欧氏距离						
		D厂家	G厂家	H厂家	J厂家	K厂家	W厂家	Y厂家
H2	H	5.968	5.875	0.503	5.336	7.249	5.967	4.379
H5	H	5.024	5.459	1.207	4.570	6.715	5.229	4.328
H8	H	5.678	5.272	0.836	5.025	6.504	5.817	3.963
H11	H	6.966	6.159	1.145	6.041	7.654	6.961	4.560
H14	H	5.444	5.293	0.826	4.880	6.475	5.691	3.909
H17	H	6.280	5.793	0.807	5.696	6.965	6.332	3.907
H20	H	5.717	5.879	0.641	5.264	7.076	5.925	4.099
H23	H	7.128	6.306	1.461	6.565	7.396	7.057	3.720
H26	H	6.334	6.239	0.693	5.840	7.466	6.355	4.179
H29	H	6.646	6.251	0.752	6.048	7.511	6.644	4.107
J2	J	3.530	3.675	5.444	0.597	5.569	4.248	7.239
J5	J	3.524	3.996	5.534	0.692	5.801	4.478	7.430
J8	J	3.424	3.559	4.919	0.800	5.435	3.998	6.853
W2	W	2.963	5.886	6.192	4.394	6.412	0.308	6.600
W5	W	2.824	5.679	6.467	4.324	6.044	0.880	6.602
W8	W	1.960	5.470	5.660	3.612	5.983	1.047	6.245
W11	W	1.809	5.324	5.598	3.162	6.043	1.306	6.456
W14	W	2.247	5.588	5.697	3.626	6.283	0.814	6.491
W17	W	3.820	6.519	6.479	4.870	7.372	1.085	7.323
W20	W	2.617	5.328	5.675	3.332	6.325	0.985	6.730
W23	W	2.569	5.485	5.688	3.466	6.419	0.884	6.718
W26	W	2.862	5.585	6.596	4.043	6.155	1.284	6.935
W29	W	2.500	5.790	5.859	3.914	6.457	0.561	6.599

判别。本研究结果表明,近红外光谱法可用于不同厂家藿胆丸样品的快速、准确鉴别,本研究所建立的近红外定性分析方法可对藿胆丸制剂的假冒伪劣产品进行快速分析。

在样品收集过程中,由于采集到的部分厂家的藿胆丸批次较少,本研究所建立的藿胆丸定性分析方法工作范围有限,为了更全面、准确地对市场上销售的藿胆丸样品进行分析鉴定,仍需继续收集D、G、J、Y厂家以及其他厂家生产的藿胆丸样品来完善判别分析模型。

参考文献

- [1] 徐维统,张仁侠.浅谈影响中药疗效的影响因素[J].亚太传统医药,2010,6(5):132.
- [2] 王子荣,宋健.中药质量是保证临床疗效的关键[J].时珍国药研究,1997,8(4):8.
- [3] 姬生国,蔡佳良,郑伟龙.近红外光谱法测定藿胆丸中百秋李醇含量[J].中国药学杂志,2013,48(24):2154.
- [4] 胡咏川,田晓鑫,刘蕾,等.近红外光谱技术鉴定中药的进展[J].中国中药杂志,2012,37(8):1066.
- [5] 马晓青,蔡皓,刘晓,等.近红外光谱在中药鉴别和质量控制中的应用[J].中国药房,2012,23(7):661.
- [6] 柳艳云,郭鹏程,王文曦,等.改性明胶注射液近红外定性分析模型的建立[J].药物分析杂志,2013,33(9):1562.
- [7] 白雁,张威,王星,等.银黄颗粒剂的近红外光谱鉴别分析[J].实验室研究与探索,2010,29(6):21.
- [8] 陆婉珍.现代近红外光谱分析技术[M].2版.北京:中国石化出版社,2006:35.
- [9] 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,2009:138.

(收稿日期:2014-05-25 修回日期:2014-08-20)