

基于电子鼻技术区分不同产地的牡丹皮药材

夏成凯^{1,2}, 宋芊芊³, 方成武^{3*} (1.安徽省中医药科学院亳州中医药研究所, 安徽 亳州 236800; 2.亳州职业技术学院, 安徽 亳州 236800; 3.安徽中医药大学, 合肥 230031)

摘要: 目的 应用电子鼻技术区分不同产地的牡丹皮药材。方法 通过单因素及正交试验法确定牡丹皮药材电子鼻测定的最佳试验条件。应用 Loading 分析法对传感器区分样品的能力进行分析, 应用主成分分析法、线性判别分析法来区分不同产地的牡丹皮药材。结果 电子鼻技术测定牡丹皮药材的最佳试验条件为称样量 3.0 g, 空气流速 300 mL·min⁻¹, 样品室温放置时间为 10 min; 研究表明, 其区分度均>0.980; 7 号传感器 W1W 对第一主成分贡献率最大, 2 号传感器 W5S 对第二主成分贡献率最大。通过对牡丹皮药材进行气味识别, 电子鼻技术对亳州、铜陵、重庆 3 个主产区的牡丹皮药材有一定的区分能力, 亳州产区不同产地之间区分度不明显。结论 利用牡丹皮药材特殊的气味并运用电子鼻对不同产地的牡丹皮药材进行区分, 效果显著, 为快速、简便的鉴别不同产地的牡丹皮药材提供新思路。

关键词: 电子鼻; 牡丹皮; 主成分分析; 线性判别分析; Loading 分析

中图分类号: R284.1 文献标志码: B 文章编号: 1007-7693(2019)21-2633-05

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2019.21.002

引用本文: 夏成凯, 宋芊芊, 方成武. 基于电子鼻技术区分不同产地的牡丹皮药材[J]. 中国现代应用药学, 2019, 36(21): 2633-2637.

Distinguish Moutan Cortex from Different Producing Areas Based on Electronic Nose Technology

XIA Chengkai^{1,2}, SONG Qianqian³, FANG Chengwu^{3*} (1.Bozhou Institute of Chinese Medicine, Anhui Academy of Chinese Medicine, Bozhou 236800, China; 2.Bozhou Vocational and Technical College, Bozhou 236800, China; 3.Anhui University of Chinese Medicine, Hefei 230031, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To distinguish Moutan Cortex from different origins by using electronic nose technology. **METHODS** The optimal conditions for the electronic nose measurement of Moutan Cortex were determined by single-factor and orthogonal test, and the sensor's ability to distinguish Moutan Cortex samples was analyzed by using the loading analysis method. The results of Moutan Cortex from different origins were analyzed by using principal component analysis and linear discriminant analysis. **RESULTS** The optimal test parameters for the measurement of Moutan Cortex by using electronic nose were as follows: sample quantity was 3.0 g, air flow rate was 300 mL·min⁻¹, and the sample placement time was 10 min. In addition, the distinction degree were all >0.980. The No. 7 sensor W1W and the No. 2 sensor W5S contributed the most to the first principal component and the second principal component respectively. Through odor recognition, Moutan Cortex from three different main producing areas in Bozhou, Tongling and Chongqing could be distinguished by using electronic nose technology, but the distinction degree between different producing areas in Bozhou was not obvious. **CONCLUSION** Combined electronic nose technology with odor recognition, Moutan Cortex from different origins could be effectively distinguished, the detection method provides a new idea for the rapid and simple identification of Moutan Cortex from different origins.

KEYWORDS: electronic nose; Moutan Cortex; principal component analysis; linear discriminant analysis; loading analysis

牡丹皮为毛茛科植物牡丹 *Paeonia suffruticosa* Andr.或芍药科植物凤丹 *Paeonia ostii* T.Hong et J.X.Zhang 的干燥根皮^[1], 性微寒, 味苦, 辛; 归心、肝、肾经, 具有清热凉血, 活血化瘀之功效; 可用于治疗温毒发斑, 吐血衄血, 经闭痛经, 无汗骨蒸等症^[2]。牡丹皮主产于安徽铜陵、南陵、亳州、重庆等地, 气候、温度、土壤与雨水等环境

因素可能造成牡丹皮质量和有效成分差异^[3]。

气、味是中药重要的性状特征, 能明确反映药物的内在本质。部分药材可以通过气、味进行鉴别; 传统的气、味鉴别主要是通过人的嗅觉进行感官描述, 难以客观表达。电子鼻是一种根据仿生学原理模拟人类嗅觉系统的人工智能电子仪器, 能够识别简单与复杂气味, 主要由气敏传感

基金项目: 安徽省教育厅自然科学重点项目(KJ2015A388); 国家中医药管理局中药标准化项目(国中医药办科技函 2016[154]号); 亳州市创新创业领军人才行动计划(亳组 2016[32]号); 安徽省科技重大专项(16030801113); 安徽省农业科技创新资金项目(科农秘 2017[344]号)

作者简介: 夏成凯, 男, 副教授 Tel: 13225679777 E-mail: 65005441@qq.com *通信作者: 方成武, 男, 教授 Tel: 13399510966 E-mail: cwfang1961@sina.com

器阵列、信号预处理单元和模式识别单元 3 部分组成。气敏传感器能将采集的气味信号转化成电信号, 信号处理系统可根据电信号来实现对样品整体气味特征的检测、识别及分析, 对样品进行定量或定性分析的一种新型分析测试设备^[4]。该技术具有响应速度快、易于使用等特点, 在中药领域得到了广泛的应用, 能很好地对中药的来源、产地、采收期、炮制品、贮藏时间、品质等级等加以区分^[5-10]。

牡丹皮为临床常用中药, 气芳香, 产地复杂, 产区分布范围广, 各主产区药材性状相似, 难以从外观进行区分。目前对牡丹皮药材电子鼻的相关研究未见报道, 因此运用电子鼻技术对牡丹皮不同产地进行研究具有一定的可行性。

本实验运用电子鼻技术对不同产地的牡丹皮药材进行气味识别, 应用 Loading 分析法对电子鼻传感器灵敏度进行分析, 应用主成分分析法(principal component analysis, PCA)、线性判别分析法(linear discriminant analysis, LDA)对获取的数据进行分析处理, 实现对不同产地的牡丹皮药材快速准确的区分鉴别。

1 仪器与药材

1.1 仪器

PEN 型电子鼻(北京盈盛恒泰科技有限责任公司); AUW220D 电子分析天平(日本 Shimadzu 公司); 高速粉碎机(浙江省永康市溪岸五金药具厂)。

1.2 药材

牡丹皮药材样品从亳州、铜陵、重庆 3 个主产区自采, 所有样品经安徽中医药大学方成武教授鉴定为正品。具体信息见表 1。

表 1 样品信息

Tab.1 Information of samples

样品编号	产地	规格等级	生长年份
1	亳州牛集镇	连丹统货	4
2	亳州华佗镇	连丹统货	4
3	亳州赵桥乡	连丹统货	4
4	亳州谯东镇	连丹统货	4
5	亳州五马镇	连丹统货	4
6	铜陵义安区牡丹科技园	连丹统货	4
7	铜陵义安区钟鸣镇	连丹统货	4
8	铜陵义安区顺安镇	连丹统货	4
9	重庆垫江县	连丹统货	4

2 方法与结果

2.1 直接顶空吸气法

取药材粉末于 10 mL 顶空进样瓶中, 在室温条件下将进样针头插入顶空进样瓶进行气味数据采集。

2.2 检验分析方法的建立

2.2.1 传感器信号分析 PEN 型电子鼻共有 10 根金属氧化物传感器, 传感器具体信息见表 2。以采样时间为横坐标, 响应信号值(G/G_0)为纵坐标, 得出的 10 条不同颜色曲线分别代表了 10 根传感器在 150 s 内的响应值变化。具体信息见图 1。

表 2 10 根金属氧化物传感器信息

Tab. 2 Ten metal oxide sensor information

阵列序号	传感器名称	性能描述
1	W1C	芳香成分
2	W5S	氮化合物
3	W3C	氨水, 芳香成分
4	W6S	氢气
5	W5C	烷烃芳香成分
6	W1S	甲烷
7	W1W	硫化物
8	W2S	乙醇
9	W2W	芳香成分, 有机硫化物
10	W3S	烷烃

2.2.2 仪器精密度考察 重复测定同一样品 5 次; 数据精密度结果见表 3, 结果显示各传感器响应值 RSD 值均<3%, 实验数据结果稳定, 表明仪器精密度良好。

表 3 电子鼻精密度考察

Tab. 3 Precision of electronic nose

传感器	RSD/%	传感器	RSD/%
W1C	2.93	W1S	2.61
W5S	2.25	W1W	2.92
W3C	1.90	W2S	2.83
W6S	2.79	W2W	2.85
W5C	0.41	W3S	0.68

2.2.3 称样量对样品区分度的影响 按照单因素试验方法, 将实验参数设定为进气量 $300 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$, 样品室温放置时间为 5 min, 其他参数不变, 分别称取 3 个不同产地的牡丹皮药材 1.0, 2.0, 3.0, 4.0, 6.0, 8.0 g 对样品进行分析, 实验结果显示当样品量 $\geq 4.0 \text{ g}$ 时, 区分度有所下降, 可能是由于牡丹皮强烈的气味影响传感器判断, 因此称样量超过 4.0 g 会影响区分度。

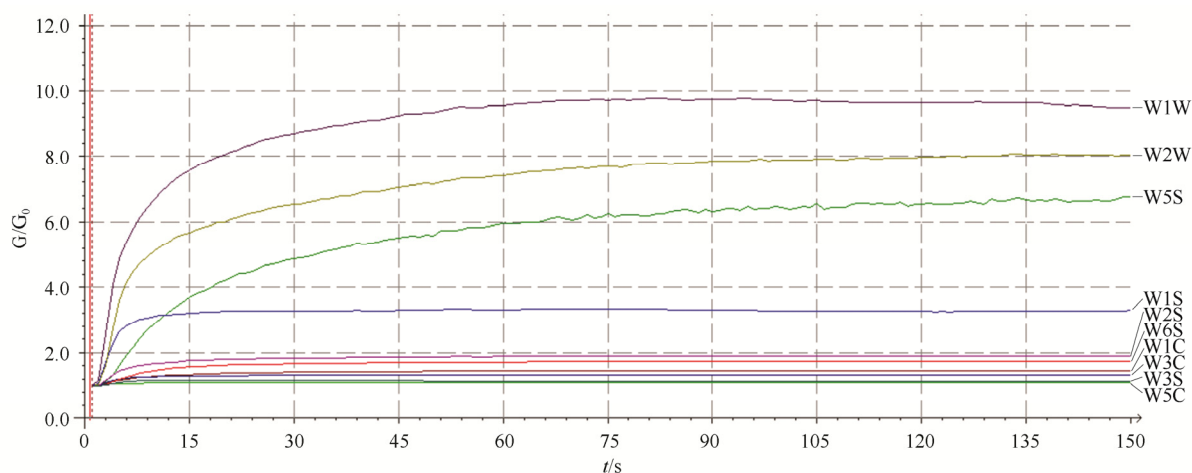


图1 牡丹皮药材电子鼻传感器响应强度曲线

Fig. 1 Response curve of Moutan Cortex detected by E-nose

2.2.4 空气流速对样品区分度的影响 按照单因素试验方法, 将实验参数设定为样品量 4.0 g, 样品室温放置时间 5 min, 其他参数不变, 分别设定进空气流速为 100, 200, 300, 400, 500, 600 mL·min⁻¹, 进气量在 300 mL·min⁻¹ 后, 传感器稳定性趋于稳定。

2.2.5 样品室温放置时间对区分度的影响 按照单因素试验方法, 将实验参数设定为样品量 4.0 g, 进气量 300 mL·min⁻¹, 其他参数不变, 室温条件下, 样品放置时间分别为 1, 5, 10, 15, 20, 25 min; 分别对样品进行分析, 实验结果显示 10 min 后传感器稳定性最好。

2.2.6 样品测定条件的优化 根据单因素试验结果, 选择称样量(A), 空气流速(B), 室温放置时间(C)3 个因素, 每个因素在上述单因素附近确定 3 个水平, 进行 L₉(3³) 正交试验, 结果见表 4, 方差分析结果见表 5。

表4 正交试验设计

Tab. 4 Orthogonal experimental design

No.	称样量 (A)/g	空气流速(B)/ mL·min ⁻¹	室温放置 时间(C)/min	区分度
1	3.0	300	5	0.978
2	3.0	400	10	0.951
3	3.0	500	15	0.901
4	4.0	300	10	0.912
5	4.0	400	15	0.899
6	4.0	500	5	0.725
7	5.0	300	15	0.889
8	5.0	400	5	0.756
9	5.0	500	10	0.922
K ₁	0.943	0.926	0.820	
K ₂	0.845	0.869	0.928	
K ₃	0.856	0.849	0.896	
R	0.098	0.077	0.108	

表5 方差分析结果

Tab. 5 Analysis of variance

方差来源	离差平方和	自由度	F 值	P 值
A	0.017	2	1.417	0.407
B	0.010	2	0.833	0.554
C	0.019	2	1.583	0.390
误差	0.010	2		

注: $F_{0.05}(2, 2)=19.00$ 。

Note: $F_{0.05}(2, 2)=19.00$ 。

根据表 4 和表 5 计算结果, 3 个水平的极差 R 分别为 0.098, 0.077, 0.108, 结果无显著性差异, 因此选取称样量 3.0 g, 空气流速 300 mL·min⁻¹, 样品放置时间 10 min 为本实验检验分析参数。

2.2.7 验证试验 根据正交试验确定的最佳检测参数, 选取 1 号样品分别进行 3 次平行试验, 实验结果显示 3 次试验区分度均>0.980。因此该电子鼻测定牡丹皮药材的最佳实验参数为称样量 3.0 g, 空气流速 300 mL·min⁻¹, 样品室温放置时间 10 min。

2.3 数据分析

用电子鼻自带的 WinMuster 软件中的 Loading 分析法、PCA 和 LDA 对试验数据进行分析。

2.4 结果与分析

2.4.1 传感器分析 Loading 分析的算法与 PCA 的算法相同, 有很好的相关性。不同的是, PCA 是对样品的分析, Loading 分析是对传感器的分析, 可以分析出传感器区分样品的能力。利用 Loading 分析法对牡丹皮样品进行分析, 结果见图 2。

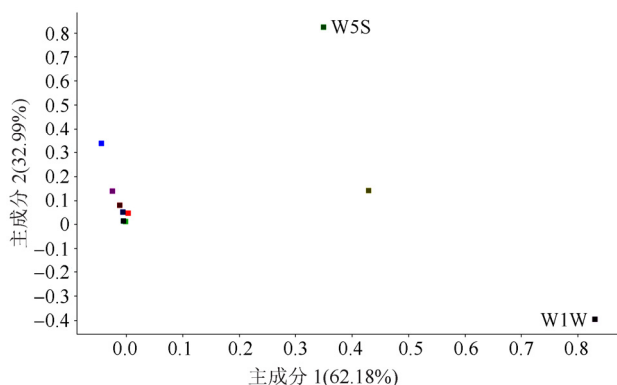


图2 牡丹皮 Loading 分析图

Fig. 2 Moutan Cortex Loading analysis chart

从图2可知,7号传感器W1W对第一主成分贡献率最大,2号传感器W5S对第二主成分贡献率最大。结合表2信息,7号传感器W1W对硫化物灵敏,2号传感器W5S对氮氧化合物很灵敏,由此可知牡丹皮药材挥发性成分中可能含有硫化物和氮氧化合物。

2.4.2 不同产地牡丹皮药材比较分析 对亳州、铜陵、重庆3个主产地牡丹皮样品进行了比较分析,结果见图3。

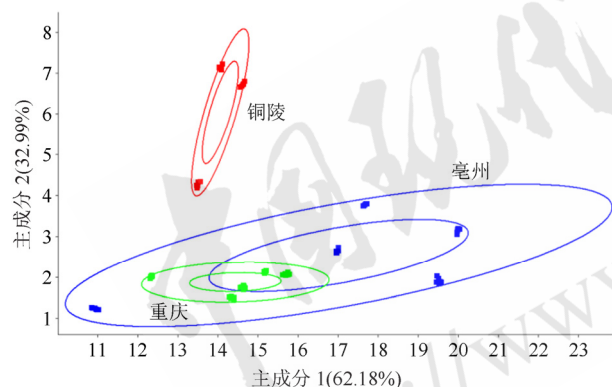


图3 不同产地牡丹皮 PCA 分析图

Fig. 3 PCA analysis chart of Moutan Cortex of different habitats

PCA 将数据降维后第一主成分贡献率(PC1)为 62.18%,第二主成分贡献率(PC2)为 32.99%,两者的总贡献率为 95.17%,可较好反映原始数据信息。分析电子鼻技术对亳州、铜陵、重庆3个不同产地牡丹皮识别能力,结果显示整体区分度较好,但亳州与重庆2个产地之间的区分度较低。

LDA 能利用模型每组信息,兼顾了组内分布和它们间的距离,提高了组间的差异。利用 LDA 分析不同产地牡丹皮能较好地区分3个主产地,结果见图4。

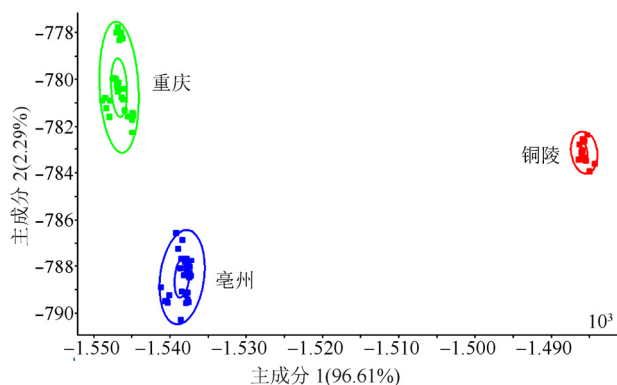


图4 不同产地牡丹皮 LDA 分析图

Fig. 4 LDA analysis chart of Moutan Cortex of different habitats

2.4.3 亳州产地不同乡镇牡丹皮药材比较分析 对亳州牛集镇、华佗镇、赵桥乡、譙东镇、五马镇5个乡镇的牡丹皮样品进行了比较分析,结果见图5。

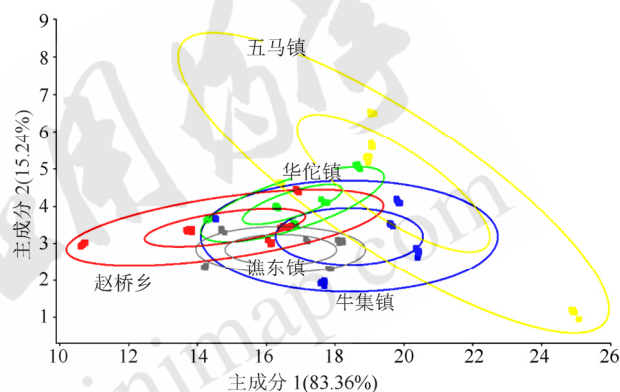


图5 不同乡镇牡丹皮 PCA 分析图

Fig. 5 PCA analysis chart of Moutan Cortex of different habitats

PCA 将数据降维后第一主成分贡献率(PC1)为 83.36%,第二主成分贡献率(PC2)为 15.24%,两者的总贡献率为 98.60%,足以反映原始数据信息。分析电子鼻技术对不同乡镇牡丹皮药材识别能力,5个乡镇之间的区分度较低。

利用 LDA 进一步分析亳州产地五个不同乡镇的牡丹皮药材,将数据降维后的总贡献率仅为 59.07%,不足以反映原始数据信息,结果见图6。

3 讨论

本研究建立了牡丹皮电子鼻检验分析的方法学,对亳州、铜陵、重庆3个主产区牡丹皮药材挥发性组分进行研究;研究结果显示该技术能较好地区分出不同产地的牡丹皮药材,但亳州产区与重庆产区之间的区分度相对较低,这可能是因为这2个产地牡丹皮药材挥发性组分整体性质较

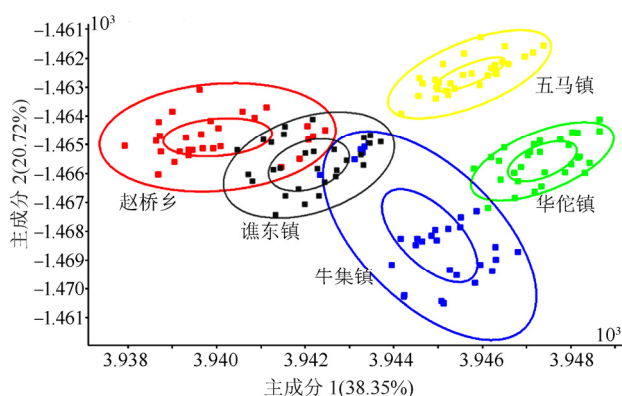


图6 不同乡镇牡丹皮 LDA 分析图

Fig. 6 LDA analysis chart of Moutan Cortex of different habitats

为相似。电子鼻对亳州产区 5 个不同乡镇的牡丹皮药材进行分析, 结果显示其区分不明显, 这可能是因为亳州产区 5 个不同乡镇的牡丹皮药材挥发性组分整体性质之间差异不大, 同时验证了不同产区的牡丹皮药材中内在本质可能与其气候、温度、土壤与雨水等环境因素有关。铜陵作为牡丹皮药材的道地产区, 能够明显区别于其他 2 个主产区, 表明电子鼻技术在判别不同产地的牡丹皮药材上具有一定的可行性。

笔者将结合牡丹皮药材标准化建设项目, 扩大牡丹皮药材样本量及样品来源, 将牡丹皮药材中主要指标性成分和对电子鼻技术分析的实验结果之间相关性做进一步分析和验证。

中药的气、味鉴别是中药性状鉴别的重要手段, 但是传统的气、味鉴别存在较强的主观性, 同时在区分不同产地方面存在一定难度。现代技术如 HPLC、GC 以及 TLC 在中药鉴别上应用广泛, 但样品前处理过程较为繁琐, 且费用高昂。电子

鼻技术具有检测速度快、操作简单的优点, 为实现中药材的快速气味鉴别提供依据, 对今后提升中药鉴别水平提供新思路、新方法。

REFERENCES

- [1] 谢宗万. 中药材正名词典[M]. 北京: 北京科学技术出版社, 2012: 412.
- [2] 中国药典. 二部[S]. 2015: Appendix 172.
- [3] ZHU T, ZHANG Y, YUE X K, et al. Suggestion and expansion of sources of some Chinese medicine in legal standards [J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药理学), 2019, 36(1): 90-93.
- [4] ZHENG S, REN W, HUANG L. Geoherbalism evaluation of Radix Angelica sinensis based on electronic nose [J]. J Pharm Biomed Anal, 2015(105): 101-106.
- [5] LI Y, WU H Z, TAN Y, et al. Electronic nose used in identifying for Cucummae Radix of multiple sources [J]. Chin J Exp Tradit Med Form(中国实验方剂学杂志), 2015, 21(1): 99-101.
- [6] CAO H, ZHANG T J, ZHANG J Y, et al. Characterization of smell and taste of pungent-taste herbs based on electronic nose and electronic tongue [J]. Chin Tradit Herb Drugs(中草药), 2016, 47(11): 1962-1967.
- [7] ZHANG D Y, WU H S, LI S Y, et al. Authenticity and genuineness identification of *Marsdenia tenacissima* by electronin nose [J]. Chin Tradit Pat Med(中成药), 2018, 40(10): 2228-2233.
- [8] HUANG D D, HE W W, JIN L, et al. Distinguish Schisandrae Fructus from different producing areas based on electronic nose technoiogy [J]. Chin J Exp Tradit Med Form(中国实验方剂学杂志), 2017, 23(23): 22-26.
- [9] LI L, YANG S L, XU M, et al. Odor and taste discrimination of Chinese Hawthorn based on electronic nose and electronic tongue [J]. Chin J Exp Tradit Med Form(中国实验方剂学杂志), 2015, 21(5): 99-102.
- [10] ZOU H Q, LI S, XING S, et al. Identification of Radix Panacis Quinquefolii with different storage time using electronic nose combined with MLP network [J]. Chin Arch Tradit Chin Med(中华中医药学刊), 2013, 31(7): 1683-1685.

收稿日期: 2019-01-06

(本文责编: 曹粤锋)