

• 资源与鉴定 •

基于电子鼻技术区分不同产地的南五味子

黄得栋¹, 何微微¹, 晋玲^{1,2*}, 马晓辉¹, 卢有媛¹, 林丽^{1,2}, 朱田田^{1,2}

(1. 甘肃中医药大学, 兰州 730000; 2. 中(藏)药资源研究所, 兰州 730000)

[摘要] 目的:应用电子鼻方法区分不同产地的南五味子药材,为在实际应用中南五味子药材的产地判断提供新方法。方法:通过单因素试验及正交试验确定南五味子电子鼻测定的最佳试验条件。应用主成分分析、主成分分析结合线性判别分析2种分析方法来区分不同产地的南五味子。结果:研究表明,电子鼻测定南五味子影响因素由大到小依次为室温放置时间>称样量>进气量;电子鼻测定南五味子的最佳参数组合为称样量5.0 g 进气量100 mL·min⁻¹,样品室温放置时间10 min;验证实验结果表明,在最佳条件下测定南五味子,样品区分度可以达到0.986。主成分分析法对不同产地的南五味子有一定的区分能力,但甘肃省华亭县、徽县江洛镇、武都区3个产地的南五味子区分结果不明显;主成分分析结合线性判别分析法对不同产地的南五味子区分能力优于主成分分析法,区分结果显著,在本实验中能够很好地区分甘肃省华亭县、徽县江洛镇、武都区3个产地的南五味子。结论:该研究利用南五味子的特殊气味运用电子鼻对不同产地的南五味子作了细致的区分,区分效果显著,对以后快速、客观、简便、绿色的鉴别不同产地的南五味子药材提供了新思路,新方法。

[关键词] 电子鼻; 南五味子; 主成分分析(PCA); 线性判别分析(LDA)

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2017)23-0022-05

[doi] 10.13422/j.cnki.syfx.2017230022

[网络出版地址] <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20170912.1448.060.html>

[网络出版时间] 2017-09-12 14:48

Distinguish Schisandrae Sphenantherae Fructus from Different Producing Areas Based on Electronic Nose Technology

HUANG De-dong¹, HE Wei-wei¹, JIN Ling^{1,2*}, MA Xiao-hui¹, LU You-yuan¹, LIN Li^{1,2}, ZHU Tian-tian^{1,2}

(1. Gansu University of Chinese Medicine, Lanzhou 730000, China; 2. Research Institute of Chinese (Tibetan) Medicinal Resources, Lanzhou 730000, China)

[Abstract] **Objective:** To apply electronic nose method distinguish Schisandrae Sphenantherae Fructus from different habitats, a new method for the determination of the origin of Schisandrae Sphenantherae Fructus. **Method:** To determine the best experimental conditions for the electronic nose technology of Schisandrae Sphenantherae Fructus by single factor test and orthogonal test, and distinguish the Schisandrae Sphenantherae Fructus samples from different producing areas based on principal component analysis and principal component analysis combined with linear discriminant analysis. **Result:** The results showed that the influencing factors of Schisandrae Sphenantherae Fructus were as follows from high to low: Storage time at room temperature > sample weight > air intake amount. The optimum parameters for the determination of Schisandrae Sphenantherae Fructus were 5.0 g sample weight, 100 mL·min⁻¹ air intake and 10 min storage at room temperature. The experimental

[收稿日期] 20170602(011)

[基金项目] 中央本级重大增减支项目-名贵中药资源可持续利用能力建设(2060302);甘肃省基础研究创新群体项目(1606RJIA323);中央引导地方科技发展专项“甘肃省中药资源与产品开发创新平台建设”

[第一作者] 黄得栋,在读硕士,从事中药资源开发与质量综合评价研究,Tel:17789623302,E-mail:365217075@qq.com

[通讯作者] *晋玲,教授,博士,从事珍稀濒危和大宗常用中药资源可持续利用研究,Tel:13659428030,E-mail:zyxyjl@163.com

results showed that the discriminative power of Schisandrae Sphenantherae Fructus under the optimum conditions could reach 0.986. Principal component analysis could be used to distinguish the Schisandrae Sphenantherae Fructus samples from different areas, but this method showed no obvious distinction ability on Schisandrae Sphenantherae Fructus from Gansu Huating county, Jiangluo town and Wudu county. The method of principal component analysis combined with linear discriminant analysis was superior to principal component analysis for distinguishing the Schisandrae Sphenantherae Fructus samples from different producing areas, with a clear distinguishing result on the samples from Huating county, Jiangluo town and Wudu county in this experiment.

Conclusion: In this study, electronic nose combined with the special smell of Schisandrae Sphenantherae Fructus was used for detailed distinction about Schisandrae Sphenantherae Fructus samples from different producing areas, with significant distinguishing effect. This study can provide a new idea and method for objective, simple and green identification of Schisandrae Sphenantherae Fructus samples from different producing areas.

[Key words] electronic nose; Schisandrae Sphenantherae Fructus; principal component analysis (PCA); linear discriminant analysis (LDA)

电子鼻是近年来发展起来的一种新型检测仪器,该仪器是根据仿生学的原理由传感器阵列和自动化模式识别系统所组成,能够识别简单和复杂气味^[1]。与其他普通的化学仪器不同,分析得到的不是被测样品中某种或某几种成分的定性与定量结果,而是给予样品中挥发成分的整体信息,也称“指纹数据”^[2]。该仪器还具有检测速度快、操作简单、灵敏度高、重复性好等优点,使其成为食品、医疗、工农业等多行业极具开发潜力的检测仪器^[3-6]。近年来电子鼻在中药领域也得到了广泛的应用,韩玉^[7]运用电子鼻对茅苍术和北苍术作了区分,并且对不同产地的茅苍术和北苍术也做了区分;陈林等^[8]运用电子鼻区分川芎不同产地及不同等级,研究表明,电子鼻可以用于区分川芎传统产区与新兴产区商品药材;可以用于区分同一产地川芎药材与等外级芎藭子。由此可见,电子鼻技术在中药材产地区分中也得到了广泛的应用。

南五味子为木兰科植物华中五味子的干燥成熟果实,气微,味微酸。具有收敛固涩、益气生津、补肾宁心等功效^[9]。南五味子药材分布于我国长江流域的南方地区,分布范围广,各地区药材性状相似,难以区分。研究表明,南五味子果实中存在挥发油成分^[10-11]。因此,运用电子鼻技术对南五味子做相关的研究具有一定的可行性。当前对南五味子电子鼻相关的研究还未见报道。本试验用德国 Pen3 型电子鼻通过单因素及正交试验来建立南五味子的最佳试验条件,应用主成分分析、主成分分析结合线性判别分析 2 种分析方法来区分不同产地的南五味子,以达到快速区分鉴别不同产地的南五味子。

1 材料

南五味子样品从四川、陕西、甘肃 3 个主流产地自采,经甘肃中医药大学晋玲教授鉴定为木兰科植物华中五味子 *Schisandra sphenanthera* 的干燥成熟果实,具体信息见表 1。

表 1 南五味子样品信息

Table 1 Schisandrae Sphenantherae Fructus sample information

药材编号	产地	采集时间
C43	甘肃华亭县	2016-04-16
C49	甘肃陇南市徽县江洛镇	2016-07-04
C58	甘肃陇南市武都区	2016-07-05
C74	四川平武黄羊镇	2016-11-06
C75	四川平武土城镇	2016-11-06
C78	四川平武水晶镇	2016-11-06
C81	陕西柞水县	2016-11-10
C84	陕西镇安县	2016-11-09

Pen3 型电子鼻(德国 Airsense 公司),10 根传感器均为金属氧化物传感器,传感器具体信息见表 2; XSE205 型电子天平(瑞士梅特勒公司);10 mL 顶空进样瓶等。

表 2 10 根金属氧化物传感器信息

Table 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	灵敏度大,对氮氧化物很灵敏
3	W3C	氨水,对芳香成分灵敏
4	W6S	主要对氢气有选择性
5	W5C	烷烃芳香成分
6	W1S	对甲烷灵敏
7	W1W	对硫化物灵敏
8	W2S	对乙醇灵敏
9	W2W	芳香成分,对有机硫化物灵敏
10	W3S	对烷烃灵敏

2 方法与结果

2.1 直接顶空吸气法 在室温条件下直接将进样针头插入装有南五味子的 10 mL 顶空进样瓶中进行电子鼻气味数据的录入。

2.2 数据分析 用电子鼻自带 Winmuster 软件中的主成分分析 (PCA) 方法以及线性判别分析方法 (LDA) 对试验数据进行分析。

2.3 检测方法确立 取四川平武水晶镇 (C78), 陕西柞水县 (C81), 陕西镇安县 (C84) 3 个产地的南五味子做试验材料, 电子鼻对 3 个不同产区的南五味子的平均区分度作为评价指标来确立最佳试验条件。德国 Pen3 型电子鼻参数设置主要有传感器清洗时间、测定时间、进气量、传感器归零时间以及测定样品准备时间。参数设置上除进气量对试验影响较大以外, 其他参数对试验影响不明显, 而且设置时间越长对试验结果影响越小。本试验将传感器清洗时间设置为 120 s, 测定时间为 60 s, 传感器归零时间设置为 10 s, 测定样品准备时间设置为 5 s, 以最大程度减少对试验的影响。而称样量、进气量及样品室温放置时间对南五味子电子鼻测定影响较大, 因此, 本试验主要考察上述 3 个因素对样品区分度的影响。

2.3.1 电子鼻对南五味子气味的识别 设定进气量为 $300 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$, 样品室温放置时间为 5 min, 样品称样量为 5.0 g, 对样品进行电子鼻测定, 观察电子鼻对南五味子气味的感应程度。结果见图 1。

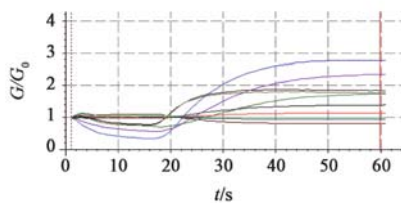


图 1 电子鼻对南五味子气味响应曲线

Fig. 1 Electronic nose to smell of Schisandrae Sphenantherae Fructus odor response curve

图 1 中横轴为采样时间 t (s), 纵轴为信号值 (G/G_0), 其中, G 是传感器接触到样品气体后的电导率, G_0 传感器在经过标准活性炭过滤气体清洗后的电导率; 图中曲线为 10 根金属氧化物传感器对样品气味的响应信号值 (不同颜色代表了不同的金属氧化物传感器)。当曲线变化幅度不大时就说明电子鼻对气味的灵敏达到了稳定状态, 如图中 40 ~ 60 s 内即为稳定状态。

2.3.2 称样量对样品区分度的影响 设定进气量为 $300 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$, 样品室温放置时间为 5 min, 其他

参数不变, 分别称取 3 个不同产地南五味子干燥成熟果实 1.0, 2.0, 4.0, 6.0, 8.0 g 对样品进行测定, 结果显示, 样品区分度随着样品称样量的增大而增大, 当样品称样量达到 6.0 g 时, 样品的区分度最好。当样品称样量继续增大时, 样品的区分度反而会有所下降, 这是由于样品浓烈的气味会影响传感器的判断, 因此样品的区分度就会下降。

2.3.3 进气量对样品区分度的影响 设定称样量为 6.0 g, 样品室温放置时间为 5 min, 其他参数不变, 分别仪器进气量参数设置为 100, 200, 300, 400, $500 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ 对样品进行测定, 结果显示, 样品区分度在进气量设置为 100, 200, 300 $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$ 时呈现出先高后低的趋势, 在 200 $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$ 时达到最好, 但变化幅度很小; 而在 300, 400, 500 $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$ 时呈明显的下降趋势, 且变化幅度较大; 这是由于当进气量较大, 单位时间内气味在传感器上富集较多, 传感器灵敏度降低所致。

2.3.4 室温放置时间对样品区分度的影响 设定称样量为 6.0 g, 进气量参数为 300 $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$, 其他参数不变, 分别设置样品室温放置时间为 5, 10, 15, 20 min 对样品进行测定。结果显示, 样品区分度随着样品放置时间的延长出现先增大后降低的趋势, 当样品放置时间在 10 min 时, 样品的区分度达到最好。而当样品放置时间继续延长后, 样品的区分度急剧下降。这是由于样品放置时间越长在进样瓶中聚集到的气味在单位体积就越浓, 单位时间进入传感器的气味越多, 对传感器的判断会有很大的影响, 因此样品的区分度就会下降。

2.3.5 电子鼻测定条件的优化 根据单因素试验结果, 选择样品称样量 (A), 进气量 (B) 及样品室温放置时间 (C) 3 个因素, 每个因素确定 3 个水平, 进行 $L_9(3^3)$ 正交试验。正交试验安排及结果见表 3。

表 3 电子鼻测定条件正交试验分析

Table 3 Orthogonal test analysis of determination of electronic nose technology

No.	A 称样量 /g	B 进气量 / $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$	C 室温放置时间 /min	区分度
1	5	100	5	0.982
2	5	200	10	0.970
3	5	300	15	0.912
4	6	100	10	0.923
5	6	200	15	0.908
6	6	300	5	0.707
7	7	100	15	0.897
8	7	200	5	0.785
9	7	300	10	0.939

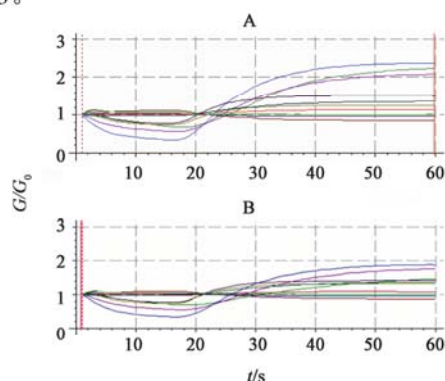
根据表 3 的结果计算 3 个水平的极差 R 分别为 0.109, 0.081, 0.119; 各因素对南五味子测定结果的影响由大到小依次为室温放置时间 > 称样量 > 进气量。从样品区分度分析可知, 按照因素的最好水平选取为 $A_1B_1C_2$, 即样品称样量 5.0 g, 进气量 $100 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$, 样品室温放置 10 min 是测定样品的最佳组合。

2.3.6 验证试验 在正交试验确定的最优条件下进行 3 次平行试验, 试验结果表明, 在最佳条件下测定南五味子, 区分度可以达到 0.986。

从单因素试验和正交试验结果可知, 电子鼻测定南五味子影响因素由大到小依次为室温放置时间 > 称样量 > 进气量。其次, 进一步确定了电子鼻测定南五味子的最佳参数组合为称样量 5.0 g, 进气量 $100 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$, 样品室温放置时间 10 min。

2.4 电子鼻区分不同产地的南五味子

2.4.1 主成分分析区分不同产地的南五味子 主成分分析原理是设法将原来变量重新组合成一组新的互相无关的几个综合变量, 同时根据实际需要从中选取出几个较少的综合变量但尽可能多地反映原来变量信息的统计方法, 也是一个降维过程。采用上述建立的南五味子最佳检测方法对不同产地的南五味子进行检测。检测到的各个产地南五味子的气味数据, 见图 2, 调入电子鼻自带 Winmuster 软件中, 选取数据范围在 45 ~ 50 s 的平稳时间段, 点击主成分分析方法, 即可得到主成分分析对不同产地南五味子的识别图以及各个产地之间的区分度数据, 见图 3。



A. C78 四川平武水晶镇; B. C81 陕西柞水县
图 2 不同产地的南五味子电子鼻响应强度

Fig. 2 Different origin of *Schisandrae Sphenantherae Fructus* electronic nose response intensity

从图 3 结果来看, 主成分分析法将数据降维后第一主成分贡献率为 96.66%, 第二主成分贡献率为 2.62%, 第一主成分和第二主成分总贡献率为

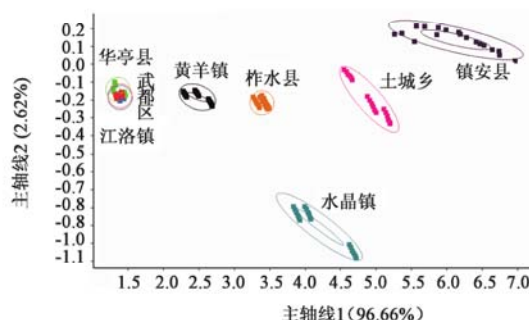


图 3 不同产地南五味子 PCA 分析识别

Fig. 3 Different origin of *Schisandrae Sphenantherae Fructus* PCA analysis identification chart

99.28%, 基本代表南五味子所有电子鼻特征信息。但对不同产地南五味子的识别能力来看, 华亭县、江洛镇、武都区 3 个产地之间的区分度较低, 不能很好的区分。考虑到其他产地的南五味子特征值可能对华亭县、江洛镇、武都区 3 个产地的南五味子有干扰, 因此只将这 3 个产地的数据单独做 PCA 分析, 结果发现, 3 个产地仍然不能很好地区分。这可能是因为 3 个产地的南五味子均属于陈货, 药材气味特征不是很明显, 也可能是因为 3 个产地的南五味子化学成分比较相似所致。相比而言, 同属于四川平武县的水晶镇、土城乡、黄羊镇 3 个产地的南五味子得到了很好地区分, 可能是这 3 个产地药材差异较大, 由此说明电子鼻对南五味子的区分能力明显。

2.4.2 PCA + LDA 区分不同产地的南五味子

PCA 通过数据的降维处理解决了数据复杂的问题, 但 PCA 算法对样本数据不敏感, 导致各组数据间的差异不能很好地表现出来。LDA 算法的突出优点是能够保证投影后的模式样本在新的空间中有最小的类内距离和最大的类间距离, 即模式在该空间中有最佳的可分离性, 但同时也存在不适用于“小样本问题”等缺点。针对这一缺点, 有不少学者采用了 PCA + LDA 的组合方法^[12], 将 PCA 和 LDA 的优点充分地融合在一起, 既能解决 PCA 算法对不同样本数据不敏感的, 又解决了 LDA 算法中的“小样本”问题, 获得了较好的分类效果。试验采用上述建立的南五味子的最佳检测方法对不同产地的南五味子进行气味检测。将检测到的各个产地的南五味子的气味数据调入电子鼻自带的 Winmuster 软件中, 选取数据范围在 45 ~ 50 s 的平稳时间段, 点击线性判别分析, 即可得到线性判别分析对不同产地的南五味子区分图, 见图 4。

从图 4 可以看出, PCA + LDA 对不同产地的南五味子的区分能力较 PCA 的区分能力显著, 数据集

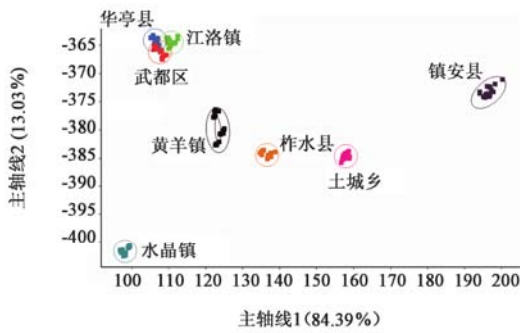


图 4 PCA + LDA 对不同产地的南五味子区分

Fig. 4 PCA + LDA different areas of Schisandrae Sphenantherae Fructus distinction map

中度高,各个产地之间的距离较远。在 PCA 分析中几乎完全重叠的华亭县、江洛镇、武都区 3 个产地在 PCA + LDA 分析中也得到了区分,但区分效果不明显,这可能是由于其他产地数据干扰所致。鉴于此,将华亭县、江洛镇、武都区 3 个较难区分的产地单独做 PCA + LDA 分析,结果显示,在排除其他产地干扰的情况下,华亭县、江洛镇、武都区 3 个较难区分的产地可以完全区分开,区分效果见图 5。

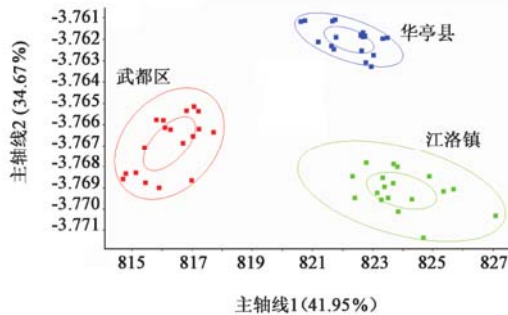


图 5 华亭县、江洛镇、武都区南五味子 PCA + LDA 分析

Fig. 5 Analysis of PCA + LDA of Schisandrae Sphenantherae Fructus in Huating county, Jianglu town and Wudu district

3 讨论

在对南五味子电子鼻方法学研究上,本次实验采用了不同产地间的区分度作为评价指标,与大多学者采用测定值的最大响应值作为评价指标不同^[13]。以区分度作为评价指标对于条件的筛选更直观,更具有说服力。

对不同产地的南五味子区分研究中发现,华亭县、江洛镇、武都区 3 个产地的南五味子区分不明显,这可能是由于 3 个产地的南五味子所含的化学成分相似,或者因为 3 个产地的南五味子都为陈货,药材气味损失严重,电子鼻响应不灵敏所致,具体原因还有待进一步研究。

中药具有的气味是评价其质量好坏的主要依据之一,也是其真伪及产地鉴别的重要依据^[14]。当前对中药材的鉴别大多是传统的鉴别方法,传统鉴别方法在真伪鉴别中的应用较为广泛,但在不同产地之间的鉴别中存在一定的困难。另外,现代技术如 TLC, HPLC, GC 以及 GC-MS 等在中药的鉴别上应用广泛,但是样品前处理过程复杂、费用高昂、污染环境等问题也逐渐显现出来,而且这些技术往往针对单一成分或几类成分的定性、定量研究。与之相比,电子鼻技术在分析样品时,过程相对简单,分析速度快,并且是对样品“气味”的整体性研究。所以,电子鼻技术在中药的鉴别中有很好的应用价值。

[参考文献]

- [1] Garder J W, Bartlett P N. A brief history of electronic nose [J]. Sensor Actuat B-chem, 1994, 18 (3) : 210-211.
- [2] 王俊, 胡桂仙. 电子鼻与电子舌在食品检测中的应用研究进展 [J]. 农业工程学报, 2004, 20 (2) : 292-295.
- [3] 唐月明, 王俊. 电子鼻技术在食品检测中的应用 [J]. 农机化研究, 2006, 21 (10) : 169-172.
- [4] 毕丽君, 高宏岩. 电子鼻 (EN) 及其在多领域中的应用 [J]. 医学信息, 2006, 19 (7) : 1283-1286.
- [5] 陈晓明, 李景明, 李艳霞, 等. 电子鼻在食品工业中的应用研究进展 [J]. 传感器与微系统, 2006, 25 (4) : 8-11.
- [6] 叶盛, 王俊. 水稻虫害信息快速检测方法实验研究—基于电子鼻系统 [J]. 农机化研究, 2010, 32 (6) : 146-149, 204.
- [7] 韩玉. 电子鼻在苍术质量评价中的应用研究 [D]. 北京: 北京中医药大学, 2011.
- [8] 陈林, 刘友平, 陈鸿平, 等. 电子鼻在川芎不同产地不同等级评价中的应用 [J]. 中药与临床, 2013, 4 (4) : 7-10.
- [9] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部 [M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2015: 244.
- [10] 李贵军, 张艳婷, 李良. 南五味子挥发油化学成分分析 [J]. 河北化工, 2008 (10) : 66, 68.
- [11] 唐志书, 崔九成. 南五味子种子挥发油成分的 GC-MS 分析 [J]. 中草药, 2005, 36 (10) : 1471-1472.
- [12] 陈洪波, 汤井田, 陈真诚. 基于 PCA-LDA 的 HIFU 治疗中组织损伤无损检测方法 [J]. 中国生物医学工程学报, 2008, 27 (6) : 812-816.
- [13] 田程, 刘春生, 吴浩忠, 等. 中药人参与西洋参饮片的电子鼻检测方法及其识别模式 [J]. 中国中药杂志, 2012, 37 (8) : 1165-1168.
- [14] 李家实. 中药鉴定学 [M]. 上海: 上海科学技术出版社, 2004: 29.

[责任编辑 顾雪竹]