

电子鼻技术鉴别金银花真伪、产地、贮藏年份

刘 鹏¹, 白上圆¹, 张维瑞¹, 杨柯楠², 袁王俊^{1*}

(1. 河南大学药学院, 河南 开封 475004; 2. 河南大学民生学院, 河南 开封 475004)

摘要: 目的 采用电子鼻技术鉴别金银花真伪、产地、贮藏年份。方法 以粉碎度、称样量、孵化温度、孵化时间为影响因素, 电子鼻对 H6 号样品的传感器响应值为评价指标, 单因素试验筛选处理方法。收集不同年份、产地的金银花及其混淆品(金银忍冬、山银花)共 46 批, 在 SuperNose-14 电子鼻系统下分析样品气味信息, 通过主成分分析、判别因子分析对其进行统计, 建立识别模型。结果 最佳处理方法为样品过 20 目筛后精密称取 1.0 g, 60 °C 水浴中孵化 30 min, 传感器响应值最高。与主成分分析比较, 判别因子分析识别模型可更清晰地地区分金银花真品与混淆品, 以及不同产地、贮藏年份。结论 该方法区分效果显著, 可为今后金银花鉴别提供新思路。

关键词: 金银花; 真伪; 产地; 贮藏年份; 电子鼻技术; 主成分分析; 判别因子分析

中图分类号: R282.5 **文献标志码:** B **文章编号:** 1001-1528(2021)07-1960-04

doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2021.07.053

金银花为忍冬科植物忍冬 *Lonicera japonica* Thunb. 的干燥花蕾或带初开的花, 具有清热解毒、疏散风热的作用, 用于痈肿疔疮、喉痹、丹毒、热毒血痢、风热感冒、温病发热, 其气清香, 味淡、微苦^[1], 分布广泛^[2], 主要化学成分包括有机酸、黄酮、三萜皂苷、挥发油等^[3], 作为大宗中药材在大量中药处方、中成药、食品、保健食品中广泛应用^[4]。但金银花同属植物多, 种植品种混杂, 导致其质量良莠不齐, 目前常见伪品有山银花、金银忍冬等^[5]。在相关检测方法中, 经验鉴别更多的是依赖鉴定人多年经验积累; 显微、理化鉴别作用有限; 色谱(HPLC-UV、GC-FID)、质谱与色谱联用(HPLC-MS、GC-MS)、DNA 分析等技术虽然准确性高, 但均有样品前处理复杂、成本高昂、耗时间长的缺点^[6-7]。

20 世纪 90 年代, 人们发明了电子鼻技术, 它由采样装置、包含传感器阵列的探测器、分析系统组成, 是模拟生物嗅觉系统以分析和识别单一或复杂气味的检测仪器, 其优点是操作简单、检测快捷、灵敏度高^[8], 可检测样品整体信息而形成气味指纹图谱^[9], 现已应用于食品、化工、农业等多个领域^[10], 而在药物方面常用于配方开发和

质量保证^[11], 同时在中药材鉴别、中药炮制气味变化、中药“五味”辨识中也有相关研究^[12-13]。武文奇^[14]等研究表明, 超快速气相电子鼻对不同调配比例金银花粉末具有良好识别效果; Xiong^[15]等证实, 同一批金银花即使储藏月份不同, 电子鼻也可以快速分析并成功区分, 但尚无采用该技术识别其真伪、产地的报道。因此, 本实验通过电子鼻技术来鉴别金银花真伪、产地、年份, 经过数据统计分析建立该药材气味识别方法, 以期为其快速鉴别提供参考依据。

1 材料

1.1 药材 金银花共 41 批, 编号 H1~H41 (2017 年产 12 批、2018 年产 13 批、2019 年产 16 批), 收集于山东、河南、河北等地; 金银忍冬共 2 批, 编号 H42~H43, 于 2019 年 5 月采自开封市禹王台公园和河南大学校园内; 山银花共 3 批, 编号 H44~H46, 购自安国药材市场, 具体信息见表 1, 经笔者鉴定分别为忍冬科植物忍冬 *L. japonica* Thunb.、金银忍冬 *L. maackii* (Rupr.) Maxim.、华南忍冬 *L. confuse* DC. 的干燥花蕾。各批药材均于当年 5~6 月份采摘, 烘干干燥法处理后装在塑封袋中, 贮存于干燥密闭条件下。

表 1 药材信息

编号	产地	采摘年份	编号	产地	采摘年份
H1	河南新密	2017 年	H13~H25	河南封丘	2018 年
H2	河南封丘	2017 年	H26~H41	河南封丘	2019 年
H3~H6	山东平邑	2017 年	H42~H43	河南开封	2019 年
H7~H8	山东鄄城	2017 年	H44~H46	河北安国中药材市场	2019 年
H9~H12	河北巨鹿	2017 年			

收稿日期: 2020-03-17

基金项目: 全国中药资源普查项目(财社[2017]183); 河南大学民生学院大学生创新创业训练计划项目(MSCXSX2019026)

作者简介: 刘 鹏(1997—), 男, 硕士生, 从事药用植物资源研究。Tel: 13598002709, E-mail: lp13598002709@163.com

* 通信作者: 袁王俊(1972—), 男, 教授, 从事药用植物资源研究。E-mail: 10200068@vip.henu.edu.cn

网络出版日期: 2020-06-19

网络出版地址: <https://kns.cnki.net/kcms/detail/31.1368.R.20200619.1235.002.html>

1.2 仪器 SuperNose-14 电子鼻 (美国 ISENSO 公司), 测量气室内放置 14 个金属氧化物半导体传感器组合成传感器

阵列, 性能见表 2; AB135-S 电子分析天平 (瑞士梅特勒-托利多公司)。

表 2 传感器性能

序号	名称	性能	序号	名称	性能
1	S1	芳香族化合物类	8	S8	胺类
2	S2	氮氧化合物, 低分子胺类	9	S9	氢气类
3	S3	硫化物类	10	S10	呋喃类
4	S4	有机酸酯和萜类	11	S11	VOC
5	S5	萜类、酯类	12	S12	硫化物
6	S6	甾醇类、三萜类	13	S13	乙烯
7	S7	脂肪烃含氧衍生物类	14	S14	内酯类、吡嗪类

2 方法

2.1 样品处理方法筛选 以电子鼻对 H6 号样品的传感器响应值为评价指标, 单因素试验筛选粉碎度、称样量、孵化温度、孵化时间。测量条件为手动进样; 传感器清洗时间 10 s; 测定时间 60 s; 采样时间 10 s。

2.1.1 粉碎度 将样品过 20、40、60 目筛, 置于进样瓶中静置 2 h 后测定传感器响应值, 发现过 20 目筛时最高, 故确定粉碎粒度为过 20 目筛。

2.1.2 称样量 取过 20 目筛样品, 精密称取 0.1、0.3、0.6、1.0、1.5 g 后测定传感器响应值, 发现称定 1.0、1.5 g 时最高, 而且无明显差异, 考虑到检测效率问题, 确定称样量为 1.0 g。

2.1.3 孵化温度 精密称取过 20 目筛的样品 1.0 g, 置于 35、45、60 °C 水浴中加热 40 min 后测定传感器响应值, 发现在 60 °C 时最高, 故确定水浴温度为 60 °C。

2.1.4 孵化时间 精密称取过 20 目筛的样品 1.0 g, 置于 60 °C 水浴中孵化 20、30、40 min 后测定传感器响应值, 发现在 30 min 时最高, 故确定孵化时间为 30 min。

2.2 电子鼻响应值测定

2.2.1 分析条件 采用直接顶空吸气法, 在“2.1”项最优处理方法下直接将进样针头插入含样品的进样瓶中吸气, 测定条件为室温 (24±2) °C; 采样时间每组 10 s; 传感器自清洗时间 10 s; 分析采样时间 60 s, 每批样品连续测量 3 次。以采样时间为横坐标, 传感器响应电压为纵坐标绘制响应曲线, 结果见图 1。

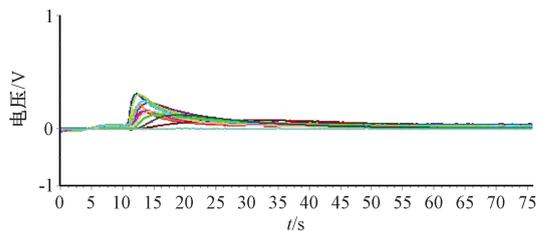


图 1 电子鼻对 H6 号样品的响应曲线

2.2.2 精密度试验 取 H6 号样品, 测定 14 个传感器响应值, 重复 5 次, 测得其 RSD 均小于 2.0%, 表示仪器精密度良好。

2.3 数据分析

2.3.1 主成分分析 主成分分析可对包含在数据集中的所

有信息进行简化处理, 是利用降维的思想, 即从原始的多个变量中取少数线性组合作为综合指标, 能最大限度地保持原有变量的信息, 确定样本间的内在聚类特性^[16]。

2.3.2 判别因子分析 判别因子分析是用于构建模型并识别未知样品类别的算法, 可缩小同一数据集之间的差异, 并通过数学变换扩大不同组别之间的差异, 从而建立数据识别模型。它与主成分分析的区别在于可根据已知信息重新组织所收集的信息, 从而使结果尽量与已知信息一致^[17]。

3 结果

3.1 真伪鉴别 采用电子鼻对 2019 年产金银花、山银花、金银忍冬进行检测, 将所得气味数据调入系统自带软件中, 分别进行主成分分析、判别因子分析, 结果见图 2~3。主成分分析中第一、第二主成分贡献率分别为 95.27%、1.73%, 累计方差贡献率为 97.00%, 可涵盖样品大部分原始信息, 在不考虑异常数据信息的情况下可将三者区分开, 但其分离度不高, DI 值仅为 24.48, 而判别因子分析区分度更好。

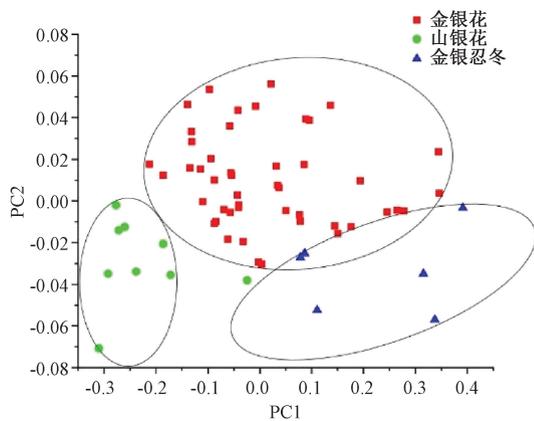


图 2 不同品种样品主成分分析图

3.2 产地鉴别 对 2017 年产 3 个产地金银花的气味响应值进行主成分分析、判别因子分析。结果见图 4~5, 主成分分析中第一、第二主成分贡献率分别为 83.56%、6.35%, 累计方差贡献率为 89.91%, 可涵盖样品大部分原始信息, DI 值为-112.94, 但不同产地样品的特征数据点大多均重叠; 判别因子分析中 3 个产地地区别明显, 可被明确分为 3 类, 其原因可能是上述样品因贮藏问题导致气味

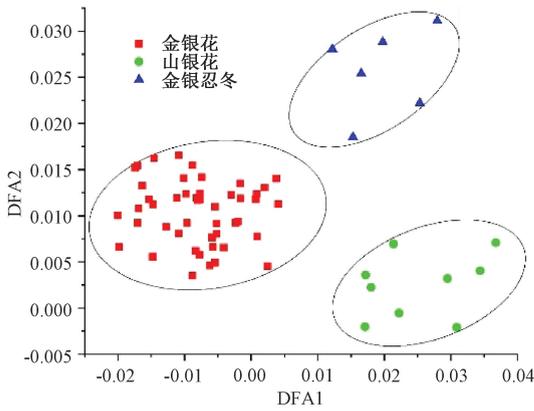


图3 不同品种样品判别因子分析图

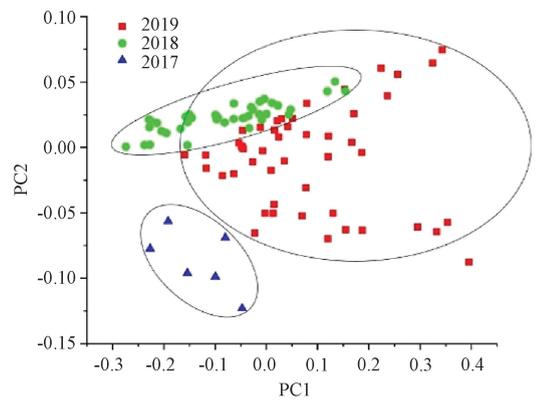


图6 不同贮藏年份样品主成分分析图

减弱及缺失。

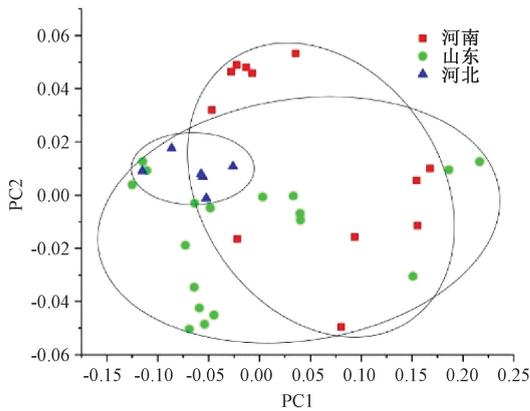


图4 不同产地样品主成分分析图

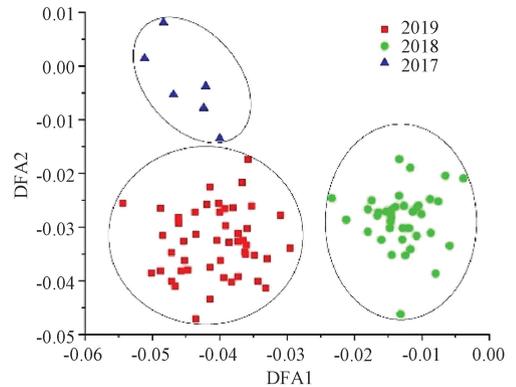


图7 不同贮藏年份样品判别因子分析图

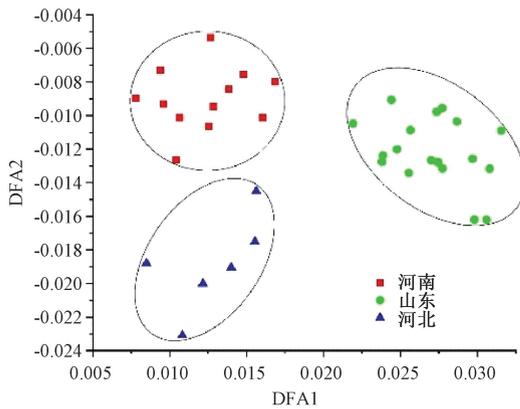


图5 不同产地样品判别因子分析图

气味响应值的贡献率，绘制雷达图，结果见图8。由此可知，传感器响应值前六位依次为2、5、1、9、4、6，结合表2推测气味成分可能主要是芳香族化合物、氮化合物、低分子胺、有机酸酯、萜类。

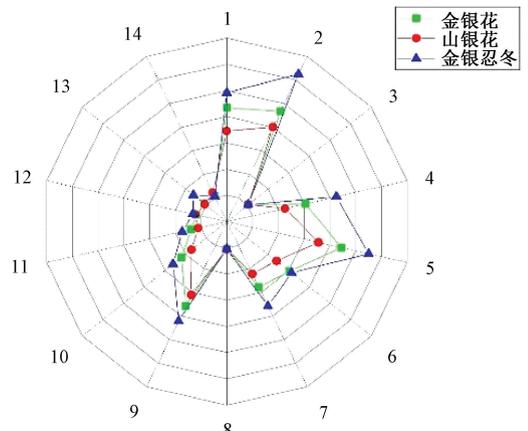


图8 气味响应值贡献率雷达图

3.3 贮藏年份鉴别 对2017、2018、2019年产自河南封丘的金银花气味响应值进行主成分分析、判别因子分析，结果见图6~7。主成分分析中第一、第二主成分贡献率分别为88.42%、4.74%，累计方差贡献率为93.16%，可涵盖样品大部分原始信息，DI值为-73.04，2017年产样品的特征数据与2018、2019年产区别明显，而2018、2019年产样品的有交叉现象；判别因子分析中3个年份产样品分别聚集在不同区域，表明该方法更适合用于鉴别贮藏年份。

3.4 气味成分分析 计算每个传感器对金银花及其混淆品

4 讨论

本实验采用电子鼻技术对金银花真伪、产地、贮藏年份进行了初步鉴别，通过测定各批药材响应值，结合主成分分析、判别因子分析构建了相关识别模型，发现前者仅可用于真伪鉴别，而后者能用于真伪、产地、贮藏年份鉴别，从而为中药气味标准化、中药快速鉴别提供新思路。表2显示，金银花主要成分为芳香族化合物、氮化合物、

低分子胺类、有机酸酯、萜类,与田丽梅^[18]等采用 GC-MS 联用技术所得结果一致。

中药具有的气味是评价其质量的主要依据之一,也是其真伪及产地鉴别的重要依据。电子鼻作为模拟人工嗅觉系统的机器,相比传统 GC、GC-MS 等技术而言具有整体性、快捷、环保、样品预处理简单等优点,故将其引入中药鉴别中是可行的。但本实验仅对金银花气味进行了鉴别,其具体成分及与药效作用的相关性尚不明确,还需深入探索。

参考文献:

[1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典: 2015年版一部 [S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2015: 221.

[2] 中国科学院《中国植物志》编辑委员会. 中国植物志 (第72卷) [M]. 北京: 科学出版社, 1993: 236.

[3] 吴娇, 王聪, 于海川. 金银花中的化学成分及其药理作用研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志, 2019, 25(4): 225-234.

[4] 文庆, 舒毕琼, 丁野, 等. 金银花与山银花的资源分布和种植技术发展概况[J]. 中国药业, 2018, 27(2): 1-5.

[5] 蒋超, 张雅华, 陈敏, 等. 基于双向位点特异性 PCR 的金银花真伪鉴别方法研究[J]. 中国中药杂志, 2012, 37(24): 3752-3757.

[6] 王立伟, 徐达, 安丽娜, 等. 金银花及其制剂中掺伪山银花的快速鉴别研究[J]. 中国药业, 2019, 28(1): 39-44.

[7] 代晶, 罗玲, 王佳慧, 等. HPLC-UV-ELSD 同时测定灰毡毛忍冬中 9 种成分的含量[J]. 中药材, 2015, 38(6): 1217-1219.

[8] Wang Z C, Yan Y Z, Nisar T, et al. Multivariate statistical

analysis combined with e-nose and e-tongue assays simplifies the tracing of geographical origins of *Lycium ruthenicum* Murray grown in China[J]. *Food Control*, 2019, 98: 457-464.

[9] 吕晓娜, 刘杰, 杨瑶璐, 等. 进口与国产血竭的电子鼻检测方法及其判别模式研究[J]. 中华中医药杂志, 2017, 32(2): 825-827.

[10] 邹慧琴, 刘勇, 林辉, 等. 电子鼻技术及应用研究进展[J]. 传感器世界, 2011, 17(11): 6-11.

[11] Wasilewski T, Migoń D, Gebicki J, et al. Critical review of electronic nose and tongue instruments prospects in pharmaceutical analysis[J]. *Anal Chim Acta*, 2019, 1077: 14-29.

[12] 任智宇, 拱健婷, 赵丽莹, 等. 电子鼻技术在硫熏菊花鉴别中的应用[J]. 世界科学技术-中医药现代化, 2015, 17(11): 2405-2409.

[13] 马文凤, 许浚, 韩彦琪, 等. 仿生技术在中药五味辨识研究中的进展与实践[J]. 中草药, 2018, 49(5): 993-1001.

[14] 武文奇, 毛怡宁, 李虹, 等. Heracles II 超快速气相电子鼻对金银花粉末质量的鉴别研究[J]. 中国中药杂志, 2019, 44(23): 5129-5133.

[15] Xiong Y, Xiao X H, Yang X Y, et al. Quality control of *Lonicera japonica* stored for different months by electronic nose[J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2014, 91: 68-72.

[16] 张冬月, 吴浩善, 李思雨, 等. 电子鼻技术鉴别通关藤真伪及其道地性[J]. 中成药, 2018, 40(10): 2228-2233.

[17] Zheng S H, Ren W G, Huang L F. Geoherbalism evaluation of *Radix Angelica sinensis* based on electronic nose[J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2015, 105: 101-106.

[18] 田丽梅, 缪恩铭, 曾婉俐, 等. 金银花热裂解产物的 GC-MS 分析[J]. 中国农学通报, 2017, 33(5): 116-121.