

基于仿生嗅觉技术的不同产地枳壳鉴别研究

周华英¹, 李 钟², 骆德汉³

1. 广东药科大学医药信息工程学院, 广东 广州 510006

2. 广东药科大学中药学院, 广东 广州 510006

3. 广东工业大学信息工程学院, 广东 广州 510006

摘要: 目的 建立了基于仿生嗅觉技术的枳壳气味指纹图谱鉴别方法, 为枳壳质量控制提供参考。方法 采用仿生嗅觉系统电子鼻 (PEN3) 检测不同产地枳壳气味信息, 用线性判别分析 (LDA) 进行气味指纹图谱构建与分析, 采用 MATLAB 2013 实现鉴别仿真。结果 不同产地枳壳气味指纹图谱的整体“相貌”是相似, 但各自的特征指纹峰值有明显差异。建立的枳壳气味指纹图谱可实现对不同产地枳壳的已知样品和未知样品 96% 的准确分类。结论 该方法操作简单、重复性好、检测速度快, 建立的枳壳气味指纹图谱可为其质量控制提供方法。

关键词: 枳壳; 仿生嗅觉技术; 电子鼻; 气味指纹图谱; 质量控制

中图分类号: R284.1 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2017)19-4068-05

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2017.19.026

Identification of *Aurantii Fructus* from different growing areas based on bionic olfaction technology

ZHOU Hua-ying¹, LI Zhong², LUO De-han³

1. College of Medical Information Engineerin Guangdong Pharmaceutical University, Guangzhou 510006, China

2. College of Traditional Chinese Medicine Guangdong Pharmaceutical University, Guangzhou 510006, China

3. School of Information Engineering Guangdong University of Technology, Guangzhou 510006, China

Abstract: Objective To establish odor fingerprint determination method of *Aurantii Fructus* from different growing areas based on bionic olfaction technology, and provide the reference for the quality control of *Aurantii Fructus*. **Methods** The bionic olfactory system (electronic nose, PEN3) was used to measure the odor of *Aurantii Fructus* from different growing areas; The LDA (Linear discriminant analysis) method was used to determine its odor fingerprint, and the simulation for identification was realized based on MATLAB 2013. **Results** Although these odor fingerprints of *Aurantii Fructus* from different growing areas were similar, there were significant differences in peaks' value from each other. The established odor fingerprints can achieve the 96% identification accuracy between known and unknown samples. **Conclusion** The method is simple, accurate and repeatable, which can be used for quality control of *Aurantii Fructus* from different growing areas.

Key words: *Aurantii Fructus*; bionic olfactory technology; electronic nose; odor fingerprint; quality control

枳壳 *Aurantii Fructus* 是《中国药典》收录的常用中药材。枳壳气香, 味苦、辛、酸, 具有理气宽中、行滞消胀等功效^[1]。枳壳在我国江西、湖南、四川等地都有生产, 其中, 江西枳壳为枳壳的道地药材^[2]。当前中药材市场上的枳壳因品种、产地和炮制技术不同, 导致其活性成分及量相差甚远, 从而形成多种枳壳及其杂品枳壳^[3]。在目前常用的理

化鉴别和显微鉴别研究中^[4-8], 已有很多研究者利用薄层色谱、高效液相色谱等分析方法鉴别不同产地枳壳, 进行枳壳中药质量控制相关的研究^[9-10], 这些方法操作过程繁杂, 要求专业性强。

本实验尝试利用仿生嗅觉技术 (简称电子鼻) 获取枳壳的整体气味信息, 通过分析与比较气味信息, 建立枳壳气味指纹图谱, 鉴别不同产地枳壳,

收稿日期: 2017-02-16

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (61571140); 广东省公益基金资助项目 (2016A020226018); 广东省中医药管理局项目 (20161152)

作者简介: 周华英 (1974—), 女, 湖南, 讲师, 在读博士, 主要从事信息获取与处理的教学与研究工作。

Tel: (020)39352535 E-mail: zhhying1224@163.com

探讨枳壳质量控制方法, 以期为枳壳质量控制提供参考。

1 材料与仪器

1.1 材料

枳壳分别购于江西、湖南、四川、浙江 4 个种植地区的正规中药材批发市场, 并且全部为 2015 年 7 月中旬采摘的绿色未成熟果实, 共 12 批, 经广东药科大学中药学院韩彬教授鉴定为酸橙 *Citrus aurantium* L. 的干燥未成熟果实。样品详细信息见表 1。

表 1 不同产地枳壳样品

Table 1 Samples of *Aurantii Fructus* from different growing areas

编号	样品名称	产地
1	江西枳壳-1	江西樟树
2	江西枳壳-2	江西樟树
3	江西枳壳-3	江西樟树
4	四川枳壳-1	四川成都
5	四川枳壳-2	四川成都
6	四川枳壳-3	四川成都
7	浙江枳壳-1	浙江温州
8	浙江枳壳-2	浙江温州
9	浙江枳壳-3	浙江温州
10	湖南枳壳-1	湖南沅江
11	湖南枳壳-2	湖南沅江
12	湖南枳壳-3	湖南沅江

表 2 PEN3 电子鼻系统各传感器名称及特点

Table 2 Name and characteristics of each sensor of PEN3

编号	传感器名称	性能	选择气体	检测范围
S1	W1C	对芳香成分灵敏	甲苯	1×10^{-5}
S2	W5S	灵敏度大, 对氮氧化物很灵敏	二氧化氮	1×10^{-6}
S3	W3C	对氨水、芳香成分灵敏	苯	1×10^{-5}
S4	W6S	对氢气灵敏	氢气	1×10^{-4}
S5	W5C	对烷烃、芳香成分灵敏	丙烷	1×10^{-6}
S6	W1S	对甲烷灵敏	甲烷	1×10^{-4}
S7	W1W	对硫化物灵敏	硫化氢	1×10^{-6}
S8	W2S	对乙醇灵敏	一氧化氮	1×10^{-4}
S9	W2W	对芳香成分、有机硫化物灵敏	硫化氢	1×10^{-6}
S10	W3S	对烷烃灵敏	丙烷	1×10^{-5}

2.4 样品响应曲线

12 份样品经电子鼻检测后, 得到响应曲线见图 1。图 1 显示, 传感器 W5S (S2) 反应最灵敏, 湖南产枳壳 S2 响应值为 9.5~11.0; 四川产枳壳 S2 响应值为 20.5~22.0。

3 鉴别模型构建

每份样品的每次采样过程中, 在传感器稳定状

1.2 仪器

PEN3 电子鼻 (德国 Airsense 公司), 由自动进样器、传感器阵列和计算机信号处理系统组成。PEN3 电子鼻的测量室体积小, 内置由 10 个金属氧化气体传感器组成的传感器阵列, 其功用及特点见表 2。

2 方法

2.1 样品准备

先取枳壳样品, 打粉, 过筛, 分别称取各枳壳粉末样品 10 g 于密封袋中密封, 备用。

2.2 实验准备

每份样品的测试时间约为 60 min, 测试前, 依次取一份样品放置于 150 mL 顶空瓶中静置 30 min, 备用。连接电子鼻与电脑, 为确保测试数据的精度, 本实验设置每份样品连续采样 12 次, 每次采样持续时间 130 s, 传感器冲洗时间 180 s, 并设置好数据文件的保存路径, 同时记录实验室温度 27.5 °C, 相对湿度 72%。

2.3 样品检测

待样品静置 30 min 后, 连接电子鼻进气装置, 并运行电子鼻软件, 开始检测, 获取样品气味数据。每份样品测试完毕, 得到 12 个数据文件, 每个文件为 130×10 的数据矩阵 (130 s 内 10 个传感器的测量值)。12 份样品全部测试完毕, 共获得 $144 (12 \times 12 = 144)$ 个数据文件。

态的第 40~60 秒随机选取 1 个样本点, 每份样品选取 12 个样本点, 则同一省份的总样本点数为 $36 (12 \times 3)$ 个。利用线性判别分析 (Linear Discriminant Analysis, LDA) 对这 4 省的 144 (36×4) 个样本数据进行鉴别分析, 并构建鉴别模型。

3.1 LDA 基本原理

LDA 是指在输入变量上构建线性判别函数准则

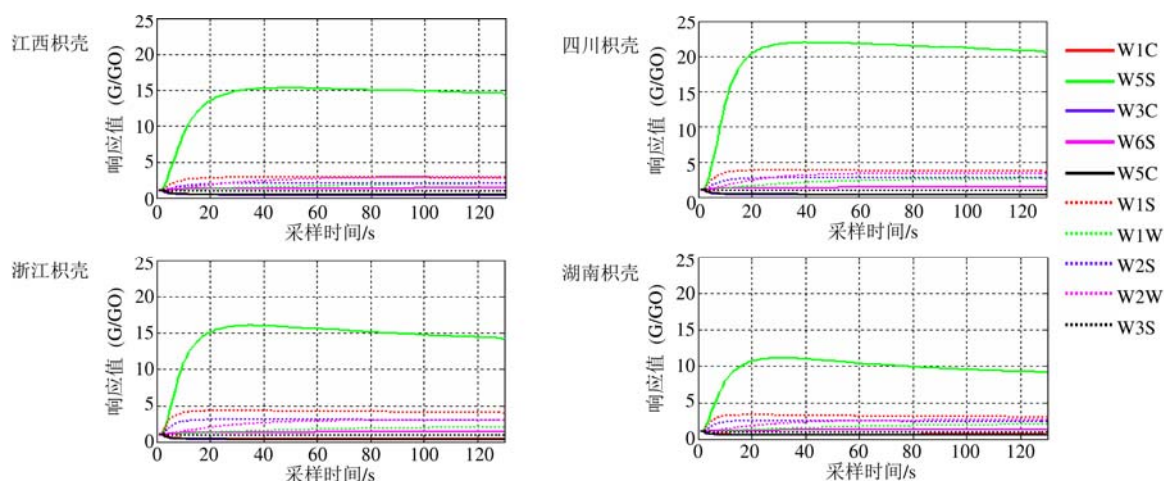


图 1 不同产地枳壳气味采集响应曲线

Fig. 1 Odor response curves of *Aurantii Fructus* from different growing areas

(包括 Fisher 准则、最大散度差准则、感知准则以及最小平方误差准则等)的方法, 该判别函数由所有特征量的线性组合构成, 通过寻求一种变换, 使得在某种意义下类间分离性最大, 类内分离性最小或相异性最小。本实验采样 Fisher 鉴别准则构造判别函数。

Fisher 鉴别准则的基本思想就是维数压缩, 即投影, 把 d 维空间中的数据点通过选择适当的方向投影到一条直线上, 使得在该投影方向 w 上能够最大限度地区分各类数据点。假设有一组 n 个 d 维 y_1, y_2, \dots, y_n 的样本 x_1, x_2, \dots, x_n 。它们分属于 N 个不同的类别, 设每类样本的个数分别为 $n_i, i=1, 2, \dots, n$ 则有:

$$n = \sum_{i=1}^N n_i$$

如果对 x 中的各个成分作线性组合, 就得到一个标量 y :

$$y = w^T x$$

这样, 全部 n 个样本 x_1, x_2, \dots, x_n 就产生了 n 个结果 y_1, y_2, \dots, y_n , 相应地分属于集合 G_1, G_2, \dots, G_N 。目标就是要确定最佳的直线方向 w , 以达到最好的分类效果。这个最佳的直线方向 w 应该能够在把 d 维空间中的所有点转化为一维数值之后, 既能最大限度地缩小同类中各个样本点之间的差异, 又能最大限度地扩大不同类别中各个样本点之间的差异, 使得分类判别更易于进行^[11-12]。

3.2 LDA 鉴别模型分析

本实验对测量数据进行 LDA, 并利用 MATLAB 2013 实现鉴别仿真。仿真效果见图 2、3。其中图 2

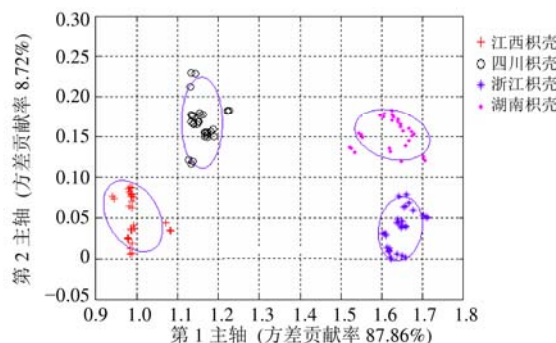


图 2 特征降维前鉴别结果

Fig. 2 Identification results before feature dimension reduction

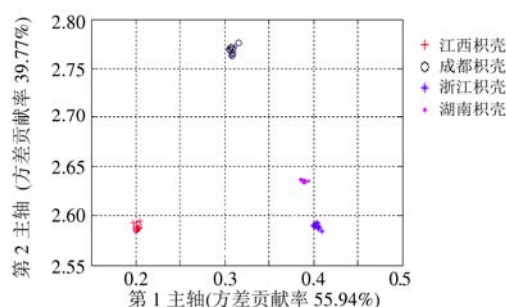


图 3 特征降维后鉴别结果

Fig. 3 Identification results after feature dimension reduction

是对样本点数据进行归一化的高维矩阵直接进行 LDA。图 3 是在对样本点数据归一化后, 首先采用特征参数: 曲线标准差、传感器峰值、曲线积分值、方差最大时刻的响应值进行特征降维, 然后对特征降维后的矩阵进行 LDA 鉴别。

在图 2 中, 前 2 个主成分的累积方差贡献率超过 96%, 其中第 1 主轴方差贡献率为 87.85%, 第 2 主轴方差贡献率为 8.72%, 4 类不同产地的枳壳中药样品数据分别分布于 4 个不同的区域, 彼此没有交叉和重叠, 但样本点分布较为分散。在图 3 中, 前 2 个主成分的累积方差贡献率超过 95%, 其中第 1 主轴方差贡献率为 55.94%, 第 2 主轴方差贡献率为 39.77%, 同时样本点在各分类区域中分布更密集, 鉴别分类效果明显。结果表明, 采用仿生嗅觉技术对不同产地枳壳麸炒品进行 LDA, 能达到 100% 的分类效果, 而且, 特征降维后分类效果更佳。

3.3 气味指纹图谱鉴别模型的建立

通过 LDA 分析与训练, 本实验建立不同产地枳壳气味指纹图谱, 见图 4。图 4 显示, 枳壳的气味特征指纹谱图的整体相貌是相似的, 但不同产地枳壳的气味指纹图谱在特征指纹峰的数值上有较大差别。成都枳壳的第 1 个峰值约为 10.45, 第 2 个峰值约为 5.89; 江西枳壳和浙江枳壳的第 1 个峰值相差不大, 都约为 7.48, 但江西枳壳的第 2 个峰值约为 4.12, 浙江枳壳的第 2 个峰值约为 4.92; 湖南枳壳的第 1 个峰值最小, 约为 5.14, 第 2 个峰值约为 3.56。这 4 种不同产地枳壳中药的峰谷值彼此都不相同, 最小峰谷值的是四川枳壳, 约为 -0.89, 最大峰谷值的是湖南枳壳, 约为 1.05。这说明枳壳的产地不同, 其药材的气味特征指纹图谱也有较大的差异, 但特征指纹峰的相对趋势变化曲线保持一致。这样可根据气味特征指纹峰的相对趋势变化来鉴别不同产地枳壳。

3.4 鉴别模型验证

依据建立的气味特征指纹图谱, 利用交叉验证

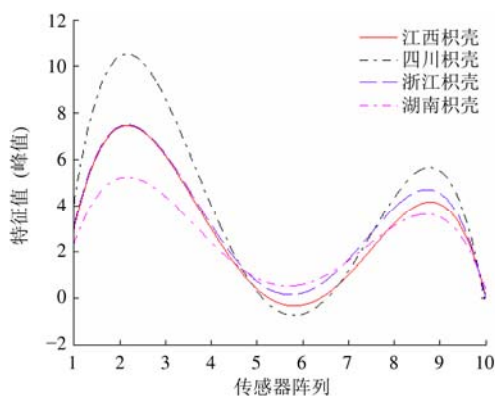


图 4 不同产地枳壳气味指纹图谱

Fig. 4 Odor fingerprints of *Aurantii Fructus* from different growing areas

对该模型的预测能力进行评估。在 4 个分组的待测样品中各随机抽取 2 个样本 (共 8 个样本) 作为未知样品, 进行了鉴别分析, 8 个未知样本均落在相应的组别中, 鉴别结果见图 5。结果表明, 该图谱能对已知样品进行 98% 的正确识别, 对未知样品的预测能力达到 96%。

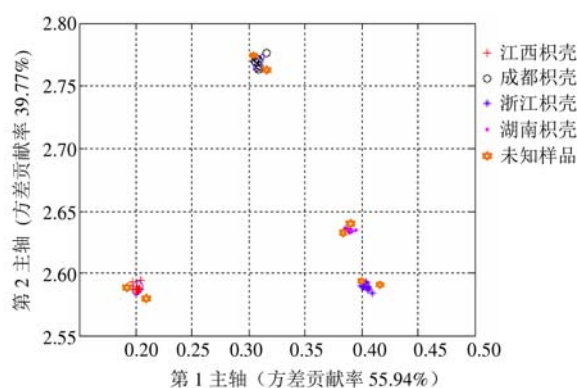


图 5 气味指纹图谱鉴别预测

Fig. 5 Identification results of odor fingerprint of *Aurantii Fructus* from different growing areas

3.5 重复性试验

取同批次江西樟树枳壳样品 10 份 (S1 取 3 份, S2 取 3 份, S3 取 4 份) 和湖南沅江枳壳样品 10 份 (S10 取 3 份, S11 取 3 份, S12 取 4 份), 分别按“2.1~2.3”项的实验方法测试, 按“3.2~3.3”项的分析方法, 记录气味指纹谱图进行分析。所得各共有峰的相对峰面积的 RSD 均小于 1.2%, 各共有峰的相对保留时间的 RSD 均小于 1.1%, 表明该方法重复性良好。

4 讨论

本研究基于仿生嗅觉技术结合 LDA 方法, 对不同产地枳壳气味特征进行了分析研究。结果表明, 仿生嗅觉技术能够对枳壳的气味进行数值化描述, LDA 分析模型可以用于电子鼻气味特征分析。图 5 结果显示, 四川枳壳与其他 3 省枳壳的气味差别明显, 而浙江枳壳、江西枳壳和湖南枳壳 3 省的气味特征有部分相似; 浙江枳壳和湖南枳壳的第 1 主轴方差值均为 0.362~0.423, 浙江枳壳和江西枳壳的第 2 主轴方差值均为 2.580~2.595。结果显示, 该图谱的初始判别率达到 98%, 交叉验证识别率达到 96%。

由于仿生嗅觉系统中传感器阵列进行气味检测时, 会受到测量环境和仪器的影响, 获得的初始数

据常常混有噪声干扰,因此,在数据处理和分类鉴别时,除了需要对检测数据进行一定的预处理步骤去除噪声,加强有用信息外,还需进行特征降维。本实验对预处理数据进行归一化后,选择以下特征参数作为降维方法,即曲线标准差、传感器峰值、曲线积分值、方差最大时刻的响应值,降维后再进行鉴别分析。结果表明,特征降维对鉴别分类有明显效果,可见,曲线标准差、传感器峰值、曲线积分值、方差最大时刻的响应值等参数作为特征选择进行降维是可行的。

本研究是基于仿生嗅觉技术结合 LDA 对不同产地枳壳鉴别研究的一次探索。实验结果表明,通过电子鼻采集枳壳气味, LDA 分析枳壳数据并建立气味指纹图谱,可实现对已知样品和未知样品 96% 及以上的准确分类。本实验仅初步研究了不同产地枳壳的气味指纹图谱,尚需研究不同储存时间的枳壳气味变化。要达到对枳壳的全面质量控制,还需要进行大量样本分析和药效学结合研究,这样枳壳气味指纹图谱才真正达到可行、可控。

参考文献

- [1] 中国药典 [S]. 四部. 2015.
- [2] 左云娟, 朱培林, 刘 强, 等. 道地药材江枳壳品种遗传学关系的 ISSR 证据 [J]. 中国中药杂志, 2005, 30(18): 1416-1419.
- [3] 王发英, 徐 欢, 杨武亮, 等. 枳壳质量标准研究 [J]. 中成药, 2009, 31(12): 1897-1901.
- [4] 苏薇薇, 招嘉文, 彭维林, 等. 中药枳壳的化学模式识别研究 [J]. 中药材, 2002, 25(10): 714-716.
- [5] 赵奎君, 郑玉忠, 董婷霞, 等. 不同产地枳壳药材 HPLC 指纹图谱及其柚皮苷、新橙皮苷和辛弗林含量分析 [J]. 中国药学杂志, 2011, 46(12): 955-959.
- [6] 顾雪竹, 毛淑杰, 李先端. 枳壳生品、炮制品中有效成分分析 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2006, 12(9): 15-17.
- [7] 郭增喜, 李文庭, 李兆奎. 不同产地枳壳中柚皮苷和新橙皮苷的测定 [J]. 中草药, 2012, 43(7): 1347-1348.
- [8] 孙玉平, 张铁军, 曹 煌, 等. 中药辛味药性表达及在临证配伍中的应用 [J]. 中草药, 2015, 46(6): 785-790.
- [9] 王发英, 徐 欢, 杨武亮, 等. 枳壳质量标准研究 [J]. 中成药, 2009, 31(12): 1897-1901.
- [10] 宋玉鹏, 胡源祥, 陈海芳, 等. 对枳实和枳壳药用品种变迁的思考 [J]. 江西中医药大学学报, 2016, 28(4): 120-124.
- [11] Sergios T, Konstantinos K. 模式识别 [M]. 李晶皎, 王爱侠, 译. 北京: 电子工业出版社, 2016.
- [12] 曹 煌, 张铁军, 张静雅, 等. 基于电子鼻和电子舌技术的辛味中药气-味的表征研究 [J]. 中草药, 2016, 47(11): 1962-1967.