

•资源与鉴定•

基于灰色关联-TOPSIS法的“金银花”类药材品质评价及其多元光谱基原识别研究

董继晶^{1,2}, 齐路明³, 王科⁴, 丁于刚^{1,2}, 马云桐^{1,2*}

(1.西南特色中药资源国家重点实验室,四川成都611137; 2.成都中医药大学药学院,四川成都611137; 3.成都中医药大学养生康复学院,四川成都610075; 4.成都工业学院,四川成都610031)

[摘要] 该研究使用灰色关联-TOPSIS法评价不同基原“金银花”类药材品质,并应用傅里叶变换近红外和中红外光谱技术,结合化学计量学和光谱融合策略,建立不同基原“金银花”类药材识别模型。通过采用高效液相色谱测定6种不同基原“金银花”类药材中新绿原酸、绿原酸、隐绿原酸、咖啡酸、断氧化马钱苷、异槲皮苷、异绿原酸B、异绿原酸A、异绿原酸C的含量,采用灰色关联-TOPSIS法对它们的品质进行评价。此外,采集6种不同基原“金银花”类药材(忍冬、灰毡毛忍冬、红腺忍冬、黄褐毛忍冬、华南忍冬、细毡毛忍冬)的近红外与中红外光谱数据,结合主成分分析(PCA)、支持向量机(SVM)及光谱数据融合技术,确定“金银花”类药材基原识别的最佳方法。结果表明,不同基原“金银花”类药材品质存在差异,其中忍冬与其他5种基原存在显著性差异($P < 0.01$),细毡毛忍冬与黄褐毛忍冬、灰毡毛忍冬、红腺忍冬的品质存在显著差异($P = 0.008, 0.027, 0.01$),而红腺忍冬与华南忍冬品质亦存在显著差异($P = 0.001$)。基于单一光谱建立的PCA、SVM模型二维图均无法用于“金银花”类药材的有效识别;数据融合结合SVM模型进一步提高识别正确率,中级融合的认可准确率为100%。可见灰色关联-TOPSIS法能用于不同基原“金银花”类药材的品质评价;同时,基于红外光谱数据融合策略,SVM化学计量学模型,能够对不同基原的“金银花”类药材进行准确识别,为该类型药材的基原鉴定提供了一种新方法。

[关键词] “金银花”类药材;灰色关联-TOPSIS法;品质评价;光谱融合技术;化学计量学;识别研究

Quality evaluation and multi-spectral identification of origin herbs of *Lonicerae Japonicae Flos* based on grey correlation-TOPSIS methodDONG Ji-jing^{1,2}, QI Lu-ming³, WANG Ke⁴, DING Yu-gang^{1,2}, MA Yun-tong^{1,2*}

(1. State Key Laboratory of Southwestern Chinese Medicine Resource, Chengdu 611137, China;

2. School of Pharmacy, Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu 611137, China;

3. Health and Rehabilitation College, Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu 610075, China;

4. Chengdu Technological University, Chengdu 610031, China)

[Abstract] The grey correlation-TOPSIS method was used to evaluate the quality of the origin herbs of *Lonicerae Japonicae Flos*, and the Fourier transform near-infrared (NIR) and mid-infrared (MIR) spectroscopy was applied to establish the identification model of origin herbs of *Lonicerae Japonicae Flos* by combining chemometrics and spectral fusion strategies. The content of neochlorogenic acid, chlorogenic acid, cryptochlorogenic acid, caffeic acid, secoxyloganin, isoquercitrin, isochlorogenic acid B, isochlorogenic acid A, and isochlorogenic acid C in six origin herbs of *Lonicerae Japonicae Flos* was determined by high-performance liquid chromatography (HPLC), and their quality was evaluated by the grey correlation-TOPSIS method. The Fourier transform NIR and MIR spectra of six origin herbs of *Lonicerae Japonicae Flos* (*Lonicera japonica*, *L. macranthoides*, *L. hypoglauca*, *L. fulvotomentosa*, *L. confuse*, and *L. similis*) were collected. At the same time, principal component analysis (PCA), support vector machine (SVM), and spectral data

[收稿日期] 2022-10-22

[基金项目] 四川省科技厅重大科技专项(2020YFN0152); 南江细毡毛忍冬品质提升项目(301022012-2)

[通信作者] * 马云桐, 博士, 教授, 主要从事中药资源及质量评价等研究, E-mail: mayuntong@cdutcm.edu.cn

[作者简介] 董继晶, 硕士研究生, 主要从事中药资源及品质评价等研究, E-mail: dongjijing2022@163.com

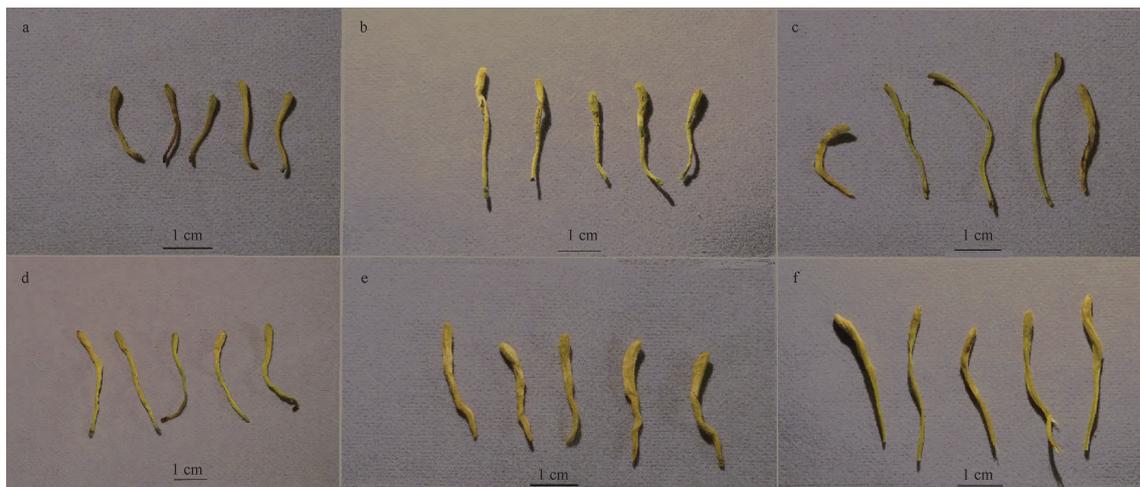
fusion technology were combined to determine the optimal identification method for the origin herbs of *Lonicerae Japonicae Flos*. There were differences in the quality of the origin herbs of *Lonicerae Japonicae Flos*. Specifically, there were significant differences between *L. japonica* and the other five origin herbs ($P < 0.01$). The quality of *L. similis* was significantly different from that of *L. fulvotomentosa*, *L. macranthoides*, and *L. hypoglauca* ($P = 0.008, 0.027, 0.01$), and there were also significant differences in the quality of *L. hypoglauca* and *L. confuse* ($P = 0.001$). The PCA and SVM 2D models based on a single spectrum could not be used for the effective identification of the origin herbs of *Lonicerae Japonicae Flos*. The data fusion combined with the SVM model further improved the identification accuracy, and the identification accuracy of the mid-level data fusion reached 100%. Therefore, the grey correlation-TOPSIS method can be used to evaluate the quality of the origin herbs of *Lonicerae Japonicae Flos*. Based on the infrared spectral data fusion strategy and SVM chemometric model, it can accurately identify the origin herbs of *Lonicerae Japonicae Flos*, which can provide a new method for the origin identification of medicinal materials of *Lonicerae Japonicae Flos*.

[Key words] origin herbs of *Lonicerae Japonicae Flos*; grey correlation-TOPSIS method; quality evaluation; spectral fusion technology; chemometrics; identification study

DOI: 10.19540/j.cnki.cjmm.20221210.102

多基原现象是中药的一大特点,对于扩大药源、保障临床用药具有重要意义,但同时,此现象的存在给中药的识别与临床使用带来了困难。我国98种忍冬属 *Lonicera* 植物中有47种被作为药用植物在临床、食品中使用^[1]。2020年版《中国药典》将忍冬 *L. japonica* Thunb. 作为金银花的基原植物,将灰毡毛忍冬 *L. macranthoides* Hand.-Mazz.、华南忍冬 *L. confuse* (Sweet.) DC.、红腺忍冬 *L. hypoglauca* Miq.、黄褐毛忍冬 *L. fulvotomentosa* Hsu et S. C.

Cheng 作为山银花的基原植物^[2]。此外,细毡毛忍冬 *L. similis* Hemsl.、淡红忍冬 *L. acuminata* Wall. 及其他忍冬属植物亦被载入地方中药材标准或在民间使用^[3]。它们形态相似见图1,化学成分相近,这些不同基原的商品广泛作为“金银花”类药材使用^[4]。然而,基原不同,品质往往会存在差异,若差异过大,会给临床、食品及工业生产带来不利影响^[4]。因此,评价不同基原“金银花”类药材品质,并建立一种能快速甄别它们的方法尤为重要。



a. 黄褐毛忍冬; b. 华南忍冬; c. 红腺忍冬; d. 灰毡毛忍冬; e. 忍冬; f. 细毡毛忍冬。

图1 6种基原“金银花”类药材

Fig. 1 Images of 6 kinds of origin herbs of "Lonicerae Japonicae Flos"

内在成分含量是评价中药品质的重要指标^[5]。鉴于中药多组分协同是其发挥多通道、多靶点药理作用的重要原因,因此以多个指标对中药进行整体

质量评价更符合中药的整体性概念^[6]。近年来,已有学者基于符合中药整体性并与中医药理论特点相契合的灰色关联与熵权逼近理想解排序法(TOP-

SIS) 融合模型从中药多指标成分的角度成功实现中药质量综合评价^[6]。目前, 缺乏基于灰色关联度与 TOPSIS 联合模型评价不同基原“金银花”类药材品质的研究。

为保障临床应用的准确性, 已有学者使用液相色谱-四极杆飞行时间质谱进行 6 种基原“金银花”药材的识别研究, 但此方法费时费力, 且涉及复杂的样品制备和大量危险试剂的使用^[7]。近年来, 具备快速、无损、操作简便、绿色环保等优点的光谱技术在多基原中药的识别研究中展现出极大潜力^[8]。然而中药的光谱信息变量复杂, 且信息采集易受外界环境干扰, 这严重阻碍到其在中药基原识别中的应用。为简化高维的变量矩阵并提高光谱技术的可用性, 多种预处理、特征学习和数据融合的算法已用于光谱数据的优化。其中数据融合因能实现不同波段光谱特征信息融合而极大提升光谱技术在多基原中药识别中的应用潜力^[9]。数据融合分为低级、中级、高级 3 个层次, 其中低级、中级最为常用^[9]。低级融合是指将多源数据直接串联而得到更全面的数据矩阵^[10]。中级融合又称特征融合, 是指将光谱的原始数据特征值提取后将特征变量串联, 去除干扰信息, 而得到更加丰富与系统的数据矩阵^[10]。目前, 提取原始数据特征变量的方法包括主成分分析 (PCA)、小波系数、两路卷积神经网络等^[9]。

本研究针对目前市场上“金银花”类药材存在的多基原问题, 采用高效液相色谱 (HPLC) 测定不同基原“金银花”类药材中绿原酸、新绿原酸、隐绿原酸、咖啡酸、异槲皮苷、异绿原酸 A、异绿原酸 B、异绿原酸 C、断氧化马钱苷的含量, 并首次基于灰色关联度与 TOPSIS 融合模型综合评价它们品质的差异程度。此外, 应用傅里叶变换近红外光谱和傅里叶变换中红外光谱技术采集 6 种基原 145 批“金银花”类药材的光谱信息, 并比较它们的光谱特征差异。同时结合 PCA、支持向量机 (SVM)、低级及中级数据融合等化学计量学手段建立快速甄别的不同基原“金银花”类药材的识别方法, 以期“金银花”类药材质量控制提供一种有效的策略。

1 材料

1.1 样品

145 批“金银花”类药材收集于 7 个不同产地见表 1 均为 2022 年所采。经成都中医药大学马云桐教授鉴定, 所有样品来源于 6 种基原, 分别为忍冬 *L.*

japonica、灰毡毛忍冬 *L. macranthoides*、华南忍冬 *L. confuse*、红腺忍冬 *L. hypoglauca*、黄褐毛忍冬 *L. fulvotomentosa* 和细毡毛忍冬 *L. similis*。将不同基原“金银花”类药材于高速粉碎机中粉碎, 过 80 目标准筛盘, 分别储存于自封袋中, 保存于避光处, 备用。

表 1 6 种不同基原“金银花”类药材样品信息

Table 1 Information of 6 kinds of origin herbs of "Lonicerae Japonicae Flos"

No.	产地	基原
RD1~17	河南封丘	忍冬 <i>Lonicera japonica</i>
RD18~47	山东平邑	忍冬 <i>L. japonica</i>
HN1~7	贵州绥阳	华南忍冬 <i>L. confuse</i>
HHM1~6	广西隆林	黄褐毛忍冬 <i>L. fulvotomentosa</i>
HHM7~33	贵州安龙	黄褐毛忍冬 <i>L. fulvotomentosa</i>
HX1~18	湖南隆回	红腺忍冬 <i>L. hypoglauca</i>
HZM1~22	湖南隆回	灰毡毛忍冬 <i>L. macranthoides</i>
XZM1~18	四川南江	细毡毛忍冬 <i>L. similis</i>

1.2 仪器与试剂

异槲皮苷 (批号 CHB211210)、新绿原酸 (批号 CHB201129)、绿原酸 (批号 CHB170713)、异绿原酸 A (批号 CHB201217)、异绿原酸 B (批号 CHB220329)、异绿原酸 C (批号 CHB210104)、断氧化马钱苷 (批号 CHB201217)、咖啡酸 (批号 CHB170224)、隐绿原酸 (批号 CHB-Y-136) 均购自于四川省维克奇生物科技有限公司, 各对照品质量分数均 $\geq 98\%$; 甲醇、乙腈 (色谱纯, 美国 Fisher 公司); 三氟乙酸 (分析级, 成都科恩实验器材有限公司); 溴化钾 (kBr, 光谱纯, 成都科恩实验器材有限公司)。

SIL-20A/C 型高效液相系统, 包括高压梯度泵、真空脱气机、自动进样器、柱温箱、UV-VIS 检测器和色谱工作站 (日本岛津公司); 岛津傅里叶变换红外光谱仪、IR Prestige-21 型 DTGS 检测器 (日本岛津公司); Antaris II 型傅里叶变换近红外光谱仪, 包括 In Ga As 检测器、标准石英杯、RESULTTM 光谱采集软件和 TQ Analyst 9.1 分析软件 (美国 Thermo Scientific 公司); FW-4A 粉末压片机、玛瑙研钵 (天津市拓普仪器有限公司); DFT-50A 高速粉碎机 (浙江省台州温岭市林大机械有限公司)。

2 方法

2.1 化学成分含量测定

2.1.1 对照品与供试品溶液的制备 精密称取各

对照品适量,加入适量50%甲醇,分别制备成每1 mL含有0.426 mg新绿原酸,3.046 mg绿原酸,0.376 mg隐绿原酸,0.09 mg咖啡酸,0.434 mg断氧化马钱苷,0.222 mg异槲皮苷,0.604 mg异绿原酸B,1.434 mg异绿原酸A,0.888 mg异绿原酸C的混合对照品溶液。

精密称取药材粉末0.500 g,置于具塞锥形瓶中,加入50%甲醇25 mL,超声提取30 min。补足减失的质量,0.45 μm微孔滤膜过滤,得供试品溶液。

2.1.2 检测条件 Wondasil C₁₈-WR 色谱柱(4.6 mm×250 mm, 5 μm);流动相乙腈(A)-0.1%三氟乙酸(B) 梯度洗脱(0~12 min, 6.5%~8% A; 12~33 min, 8% A; 33~36 min, 8%~10.6% A; 36~40 min, 10.6%~11.2% A; 40~45 min, 11.2%~14% A; 45~51 min, 14%~15% A; 51~65 min, 15%~16% A; 65~76 min, 16%~19% A; 76~82 min, 19% A; 82~94 min, 19%~19.7% A; 94~99 min, 19.7%~70% A; 99~106 min, 70% A);进样量10 μL,流速0.6 mL·min⁻¹,检测波长254 nm,柱温38℃。

2.1.3 方法学考察 取2.1.1项下对照品溶液,逐级稀释为不同质量浓度溶液,摇匀,0.45 μm滤膜滤过,即得。按2.1.2项下色谱条件进行分析,以质量浓度为横坐标,峰面积为纵坐标,绘制标准曲线,计算得各对照品线性方程及相关系数。

取忍冬样品粉末制备供试品,连续测定6次以计算精密度;取6份忍冬粉末制备供试品,进行测定以计算方法重复性;取忍冬粉末制备供试品,分别在制备样品0、4、8、12、18、24 h后进样以计算样品稳定性;取6份忍冬粉末,精密加入各对照品适量后制备供试品液,进行加样回收率试验。

2.2 光谱信息采集

2.2.1 近红外光谱 取约3 g样品粉末装入石英样品杯中,平铺均匀平整,采用积分球漫反射方法按以下条件进行图谱采集:分辨率8 cm⁻¹,扫描波数范围10 000~4 000 cm⁻¹,信号累计扫描64次。每个样本重复扫描3次,取其平均谱图作为最后的样品谱图。

2.2.2 中红外光谱 取2 mg样品粉末与光谱纯KBr粉末于玛瑙研钵中共研磨,比例为1:200,取适量研细后的粉末平铺于红外压片模具中,以20 MPa压力压制1 min,取出,扫描。扫描波数范围4 000~450 cm⁻¹,分辨率4 cm⁻¹,信号扫描累计16

次,每个样本重复扫描3次,取其平均谱图作为最后的样品谱图。

2.3 光谱预处理

为消除实验过程中由实验环境、噪音、样品差异等对“金银花”类药材基原识别产生的无关干扰,采用Omnice 32软件依次对中红外光谱进行平滑、基线校正、归一化处理;并利用SIMCA 14.1软件对近红外与中红外光谱进行多元散射校正(MSC)、Savitzky-Golay平滑(SG)处理^[11]。

2.4 数据融合

基于低级数据融合策略,将近红外与中红外数据串联,得到新的数据矩阵用于建立判别模型。基于中级数据融合策略,以PCA过程中特征值大于1的规则,分别提取近红外、中红外光谱的前 n 个主成分进行特征融合,用于后续模型的建立及分析,流程图见图2。

2.5 模型评价标准

通过不同模型对不同基原“金银花”类药材的识别正确率来衡量所建立模型的可靠性。为消除抽样过程中的随机性影响,应用Kennard-Stone算法^[12]将145份样品按2:1分为训练集与预测集,其中97份样品被划分为训练集用于构建光谱识别模型,剩余48份被作为预测集来验证模型预测能力。

3 结果与分析

3.1 方法学考察

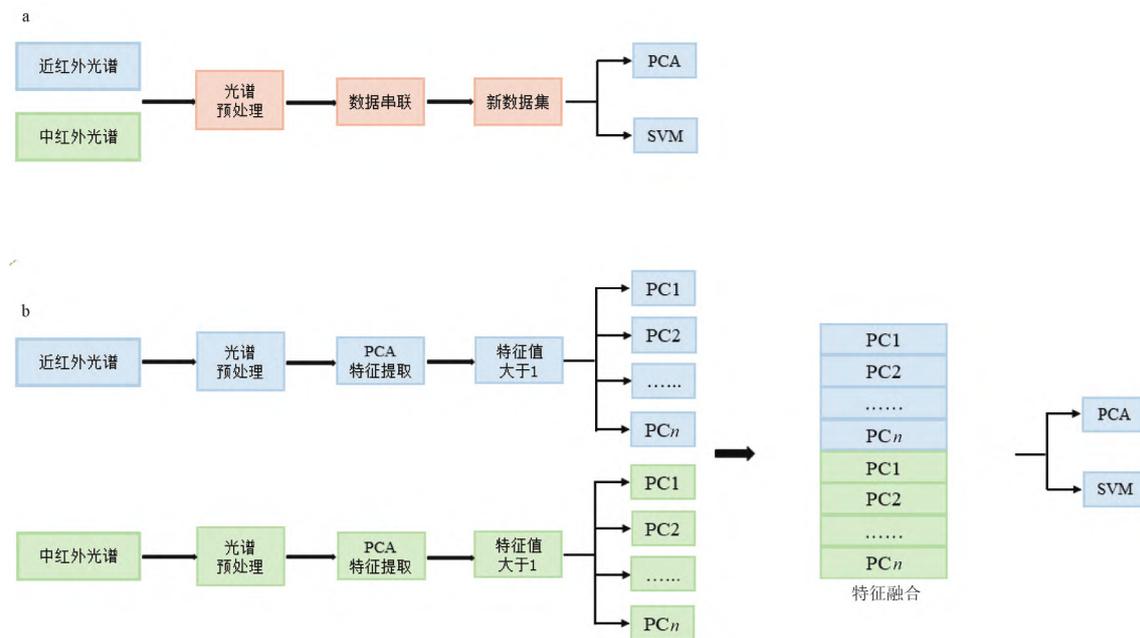
样品与对照品分离色谱图见图3,该条件下,不同基原“金银花”类药材中不同化学成分分离度良好。方法学考察显示 $R^2 \geq 0.999$,表明9种指标的线性关系良好。精密度、重复性、稳定性RSD均小于2%,平均回收率在97.20%~102.5%。结果表明HPLC方法稳定可靠,重复性好,准确性高,可用于不同基原“金银花”类药材中化学成分测定。线性方程、 R^2 、线性范围结果见表2。

3.2 HPLC

随机各选取6批不同基原“金银花”类药材,测定它们的绿原酸、新绿原酸、隐绿原酸、咖啡酸、异槲皮苷、异绿原酸A、异绿原酸B、异绿原酸C、断氧化马钱苷含量,结果见表3。

3.3 灰色关联-TOPSIS法

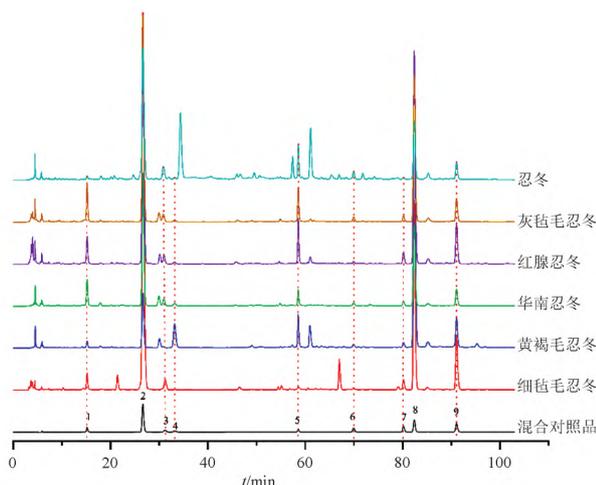
采用灰色关联度和TOPSIS方法相结合评价不同基原“金银花”类药材的品质,先利用灰色关联分



a. 低级数据融合; b. 中级数据融合(图 8、9 同)。

图 2 数据融合流程图

Fig. 2 Data fusion flow chart



1. 新绿原酸; 2. 绿原酸; 3. 隐绿原酸; 4. 咖啡酸; 5. 断氧化马钱苷; 6. 异槲皮苷; 7. 异绿原酸 B; 8. 异绿原酸 A; 9. 异绿原酸 C。

图 3 混合对照品与不同基原“金银花”类药材 HPLC

Fig. 3 HPLC of mixed controls and origin herbs of Lonicerae Japonicae Flos

析法获得各指标相对于最优序列的灰色关联系数^[13], 见表 4。再采用 TOPSIS 法^[14] 依据灰色关联系数矩阵得到最优及最劣的值向量, 然后计算各指标与最优、最劣值的欧氏距离(D_i^+ 、 D_i^-) 通过接近程度(C_i) 评价不同基原“金银花”类药材的品质差异,

表 2 9 种对照品的线性方程、 R^2 、线性范围Table 2 Linear equations, R^2 , and linear ranges of nine components

对照品	线性方程	R^2	线性范围 / $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$
新绿原酸	$y = 2 \times 10^7 x - 7\ 012.3$	1.000 0	0.136~426.260
绿原酸	$y = 2 \times 10^7 x + 49\ 454$	1.000 0	0.975~3\ 046.627
隐绿原酸	$y = 1 \times 10^7 x - 4\ 668.3$	1.000 0	0.120~376.171
咖啡酸	$y = 4 \times 10^7 x - 4\ 190.6$	1.000 0	0.029~90.005
断氧化马钱苷	$y = 1 \times 10^7 x + 377.34$	1.000 0	0.139~434.549
异槲皮苷	$y = 4 \times 10^7 x - 21\ 491$	0.999 9	0.071~222.048
异绿原酸 B	$y = 3 \times 10^7 x - 82\ 369$	0.999 9	0.193~604.720
异绿原酸 A	$y = 2 \times 10^7 x - 141\ 193$	0.999 9	0.459~1\ 434.391
异绿原酸 C	$y = 3 \times 10^7 x - 108\ 068$	0.999 9	0.284~888.004

见表 5。

不同基原“金银花”类药材理想值 C_i 见图 4。基于灰色关联-TOPSIS 模型, 以新绿原酸、绿原酸、咖啡酸、隐绿原酸、断氧化马钱苷、异槲皮苷、异绿原酸 A、异绿原酸 B、异绿原酸 C 作为品质评价指标, 发现不同基原“金银花”类药材品质存在差异。于 SPSS Statistics 26 中以单因素方差分析评价它们之间的品质差异, 发现忍冬与其他 5 种基原存在显著性差异, P 均小于 0.01; 细毡毛忍冬与黄褐毛忍

表3 不同基原“金银花”类药材化学成分质量分数

基原	新绿原酸	绿原酸	隐绿原酸	咖啡酸	断氧化马钱苷	异槲皮苷	异绿原酸 B	异绿原酸 A	异绿原酸 C
HHM2	1.336	25.204	0.478	3.764	11.258	0.442	0.794	63.638	4.288
HHM3	1.351	25.345	0.466	3.904	12.121	0.508	0.736	64.507	4.385
HHM4	1.274	25.708	0.490	3.533	11.225	0.444	0.878	66.088	4.939
HHM15	0.910	20.876	0.506	2.617	4.167	0.624	0.865	52.809	4.113
HHM19	0.797	20.554	0.411	2.935	4.631	0.573	0.760	50.498	3.396
HHM21	0.854	20.997	0.508	3.052	4.258	0.553	0.771	54.390	4.050
HN2	6.665	41.367	4.669	0.424	13.430	0.674	1.615	28.928	5.299
HN3	5.981	40.680	4.030	0.610	10.283	0.549	0.940	28.901	3.678
HN4	6.262	38.556	4.530	0.350	10.412	0.556	0.999	26.614	3.528
HN5	6.357	41.170	4.167	0.622	11.071	0.660	1.037	29.110	3.603
HN6	6.165	39.659	4.346	0.532	10.050	0.546	0.999	26.627	3.760
HN7	5.872	39.530	4.292	0.389	11.319	0.585	1.022	28.508	3.684
HX2	4.797	50.335	4.325	0.257	14.669	0.355	1.786	49.063	6.502
HX3	5.831	51.838	3.613	0.288	14.608	0.312	1.430	54.465	5.084
HX4	4.891	52.232	3.695	0.273	15.162	0.323	1.554	55.663	5.617
HX6	6.165	52.142	3.542	0.326	15.317	0.317	1.537	56.909	5.284
HX10	4.994	51.407	3.575	0.297	14.534	0.312	1.443	56.127	5.014
HX18	4.832	49.374	4.110	0.254	14.751	0.282	1.741	51.056	6.328
HZM12	6.902	45.970	4.834	0.336	11.182	0.531	1.125	32.916	4.046
HZM13	6.685	46.093	4.355	0.347	10.476	0.566	1.014	33.529	3.700
HZM17	7.639	45.015	4.511	0.330	10.069	0.566	0.997	30.976	3.596
HZM19	7.015	46.154	4.850	0.323	11.068	0.539	1.121	32.275	4.046
HZM7	7.921	47.221	4.794	0.469	10.081	0.572	1.000	32.045	3.676
HZM8	7.732	47.662	5.052	0.546	10.458	0.586	1.209	35.081	4.536
RD1	0.852	24.343	1.433	0.087	6.668	0.636	0.540	14.667	3.394
RD3	1.008	24.712	1.467	0.062	7.419	0.517	0.557	14.346	3.642
RD5	1.009	25.960	1.273	0.041	7.488	0.582	0.583	15.189	3.647
RD36	0.968	35.221	0.892	0.090	4.404	0.686	0.399	12.076	2.592
RD41	1.176	38.227	2.258	0.117	4.108	0.810	0.455	14.780	2.992
RD42	1.077	36.110	0.930	0.210	3.901	0.735	0.429	13.307	2.747
XZM3	3.572	100.367	5.810	0.078	1.258	0.290	1.571	42.620	8.727
XZM5	2.715	99.684	5.940	0.040	0.551	0.223	1.784	48.675	9.310
XZM6	2.780	93.654	3.352	0.031	0.892	0.221	1.030	51.731	6.521
XZM9	2.824	112.710	4.897	0.086	0.946	0.366	1.452	63.224	8.356
XZM10	2.408	101.357	5.203	0.092	1.812	0.370	1.092	37.643	7.987
XZM11	3.026	116.880	3.751	0.059	0.556	0.334	1.148	70.149	7.367

冬、灰毡毛忍冬、红腺忍冬存在显著差异, P 分别为 0.008、0.027、0.01。此外, 红腺忍冬与华南忍冬品质亦存在差异 ($P=0.001$)。因此, 为保障临床用药的准确性, 有必要建立快速、绿色、准确的不同基原“金银花”类药材识别方法。

3.4 光谱分析

6种基原“金银花”类药材的近红外和中红外平均光谱图见图5, 在 $10\ 000\sim 4\ 000\ \text{cm}^{-1}$ 和 $4\ 000\sim 450\ \text{cm}^{-1}$ 波段红外光谱图相似度高。6种“金银花”类药材近红外光谱的相似度为 89.4%~99.9%, 见表6。其中灰毡毛忍冬与黄褐毛忍冬最为接近, 相

似度为 99.9%, 细毡毛忍冬与黄褐毛忍冬差异最大, 为 89.4%。6种基原“金银花”类药材中红外光谱的相似度为 98.0%~99.8%, 其中灰毡毛忍冬、黄褐毛忍冬、华南忍冬之间的相似度最高, 为 99.8%。表明6种基原“金银花”药材整体化学成分组成上相似, 但在成分类型或含量上却存在差异。

对6种基原“金银花”药材平均光谱进行分析, 发现难以从谱线看出不同基原之间的差别。近红外光谱有5处特征峰。其中 $6\ 884\ \text{cm}^{-1}$ 附近吸收峰主要与 OH 的一级倍频相关; $5\ 780\ \text{cm}^{-1}$ 附近吸收峰主要归属于 C-H 的一级倍频; $5\ 172\ \text{cm}^{-1}$ 附近吸收

表 4 不同基原“金银花”类药材各指标的灰色关联系数(相对于最优序列)

Table 4 Grey correlation coefficients (relative to the optimal sequence) for each index of origin herbs of "Lonicerae Japonicae Flos"

基原	新绿原酸	绿原酸	隐绿原酸	咖啡酸	断氧化马钱苷	异槲皮苷	异绿原酸 B	异绿原酸 A	异绿原酸 C
HHM2	0.351	0.346	0.336	0.933	0.645	0.444	0.412	0.817	0.401
HHM3	0.352	0.345	0.336	1.000	0.698	0.493	0.398	0.837	0.405
HHM4	0.349	0.333	0.337	0.839	0.643	0.446	0.433	0.877	0.435
HHM15	0.337	0.334	0.337	0.601	0.398	0.613	0.430	0.626	0.393
HHM19	0.333	0.334	0.333	0.666	0.409	0.554	0.403	0.596	0.362
HHM21	0.335	0.344	0.337	0.694	0.400	0.534	0.406	0.648	0.390
HN2	0.739	0.389	0.685	0.358	0.796	0.684	0.802	0.413	0.456
HN3	0.647	0.387	0.591	0.370	0.595	0.530	0.450	0.413	0.374
HN4	0.682	0.381	0.662	0.353	0.601	0.536	0.468	0.400	0.367
HN5	0.695	0.389	0.609	0.371	0.635	0.662	0.481	0.414	0.370
HN6	0.670	0.384	0.634	0.365	0.584	0.527	0.468	0.400	0.377
HN7	0.635	0.384	0.626	0.355	0.649	0.567	0.476	0.411	0.374
HX2	0.533	0.420	0.631	0.347	0.919	0.393	1.000	0.579	0.545
HX3	0.630	0.425	0.543	0.349	0.912	0.372	0.661	0.649	0.443
HX4	0.540	0.427	0.552	0.348	0.979	0.377	0.749	0.667	0.476
HX6	0.670	0.427	0.536	0.351	1.000	0.374	0.736	0.687	0.455
HX10	0.549	0.424	0.539	0.349	0.904	0.371	0.669	0.674	0.439
HX18	0.536	0.416	0.602	0.347	0.929	0.358	0.939	0.603	0.530
HZM7	1.000	0.409	0.707	0.360	0.585	0.553	0.469	0.432	0.374
HZM8	0.950	0.410	0.757	0.366	0.603	0.568	0.546	0.453	0.413
HZM12	0.778	0.404	0.714	0.352	0.641	0.514	0.512	0.438	0.390
HZM13	0.742	0.405	0.636	0.352	0.604	0.547	0.473	0.442	0.375
HZM17	0.927	0.401	0.659	0.351	0.585	0.547	0.468	0.426	0.370
HZM19	0.797	0.405	0.717	0.351	0.635	0.520	0.510	0.434	0.390
RD1	0.335	0.342	0.380	0.337	0.461	0.629	0.358	0.344	0.362
RD3	0.340	0.343	0.382	0.335	0.483	0.502	0.361	0.342	0.372
RD5	0.340	0.346	0.372	0.334	0.485	0.563	0.366	0.346	0.372
RD36	0.339	0.371	0.354	0.337	0.404	0.704	0.333	0.333	0.333
RD41	0.346	0.380	0.429	0.338	0.397	1.000	0.343	0.344	0.347
RD42	0.342	0.374	0.356	0.344	0.393	0.797	0.338	0.338	0.339
XZM5	0.406	0.745	1.000	0.334	0.333	0.334	0.997	0.575	1.000
XZM6	0.409	0.737	0.516	0.333	0.339	0.333	0.478	0.612	0.546
XZM9	0.411	0.675	0.726	0.337	0.339	0.399	0.675	0.807	0.779
XZM10	0.392	0.920	0.789	0.337	0.353	0.401	0.500	0.472	0.717
XZM11	0.421	0.756	0.558	0.335	0.333	0.382	0.521	1.000	0.633

表 5 不同基原“金银花”类药材灰色关联-TOPSIS 评价

Table 5 Grey correlation-TOPSIS evaluation of origin herbs of "Lonicerae Japonicae Flos"

基原	D_i^+	D_i^-	C_i	基原	D_i^+	D_i^-	C_i
HHM2	1.389	0.839	0.377	HZM7	1.488	0.797	0.349
HHM3	1.543	0.927	0.375	HZM8	1.278	0.797	0.384
HHM4	1.226	0.825	0.402	HZM12	0.865	0.678	0.439
HHM15	0.823	0.530	0.392	HZM13	0.795	0.599	0.430
HHM19	0.631	0.500	0.442	HZM17	1.308	0.735	0.360
HHM21	0.756	0.490	0.393	HZM19	0.918	0.692	0.430
HN2	0.820	0.874	0.516	RD1	0.755	0.325	0.301
HN3	0.577	0.458	0.443	RD3	0.394	0.232	0.371
HN4	0.672	0.562	0.456	RD5	0.562	0.283	0.335
HN5	0.663	0.576	0.465	RD36	1.002	0.380	0.275
HN6	0.635	0.502	0.442	RD41	1.797	0.672	0.272
HN7	0.571	0.549	0.490	RD42	1.256	0.463	0.270
HX2	1.370	0.985	0.418	XZM3	1.278	1.020	0.444
HX3	1.190	0.798	0.402	XZM5	1.391	1.247	0.473
HX4	1.359	0.874	0.391	XZM6	0.707	0.548	0.436
HX6	1.390	0.913	0.397	XZM9	1.157	1.017	0.468
HX10	1.186	0.778	0.396	XZM10	0.945	0.760	0.446
HX18	1.233	0.946	0.434	XZM11	1.470	1.037	0.413

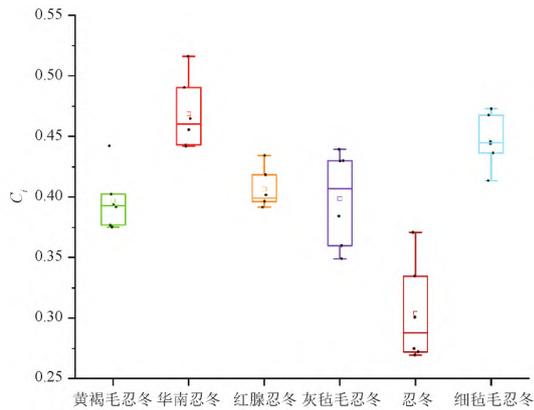
图4 不同基原“金银花”类药材接近程度(C_i)箱线图

Fig. 4 Box plot of proximity (C_i) of origin herbs of "Loniceræ Japonicæ Flos"

峰主要归属于 O-H 的一级倍频、C=O 的二级倍频; 4 328、4 246 cm^{-1} 附近吸收峰主要与芳环 C-C 的伸缩振动相关^[15]。中红外光谱有 13 个特征峰。3 417 cm^{-1} 附近吸收峰与 O-H 的伸缩振动相关; 2 929 cm^{-1} 附近吸收峰与 $-\text{CH}_2$ 的对称伸缩振动相关,可能与多糖有关; 1 735 cm^{-1} 附近吸收峰与 C=O 的伸缩振动相关,可能与挥发油、脂肪酸相关; 1 631 cm^{-1} 与 C=C 的伸缩振动相关,可能与环烯醚萜类化合物有关; 1 527 cm^{-1} 处与 N=O 的伸缩振动相关; 1 450、1 380、1 319 cm^{-1} 附近吸收峰与 C-H 的弯曲振动相关,可能与黄酮类物质有关; 1 270 cm^{-1} 处与 C-OH 的振动峰相关,可能与有机酸类成分有关; 1 056 cm^{-1} 处与醚、酯等含氧化合物的 C-O 不对称

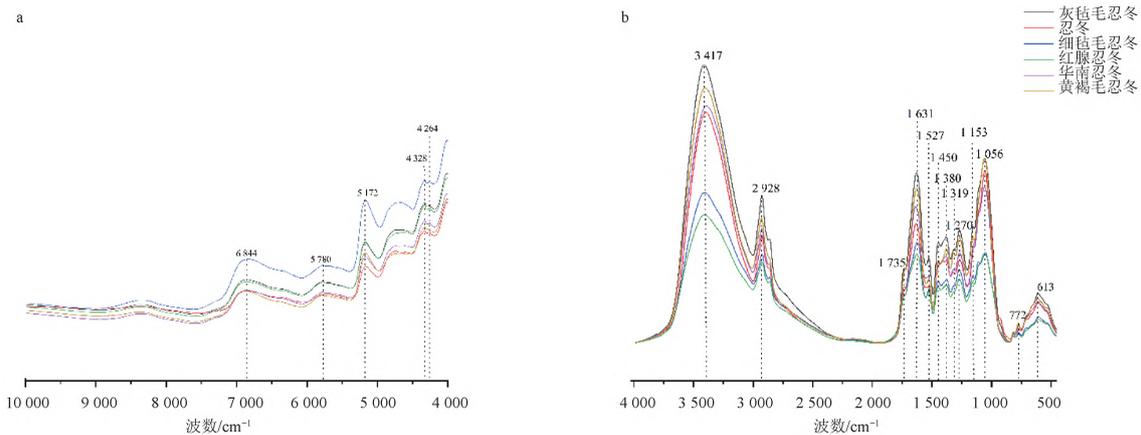


图5 不同基原“金银花”类药材近(a)、中(b)红外平均光谱图

Fig. 5 Average NIR (a) and MIR (b) spectra of origin herbs of "Loniceræ Japonicæ Flos"

表6 不同基原“金银花”类药材近、中红外光谱图相似度

Table 6 Similarity of NIR and MIR spectra of origin herbs of "Loniceræ Japonicæ Flos"

编号	近红外光谱						中红外光谱						%
	HHM	HN	HX	HZM	RD	XZM	HHM	HN	HX	HZM	RD	XZM	
HHM	100.0	99.7	89.4	99.9	99.3	89.4	100.0	99.8	98.6	99.8	99.6	98.7	
HN		100.0	92.1	99.7	99.7	92.1		100.0	98.6	99.8	99.6	98.9	
HX			100.0	90.0	92.9	99.8			100.0	99.2	98.0	99.7	
HZM				100.0	99.2	89.9				100.0	99.5	99.3	
RD					100.0	92.7					100.0	98.0	
XZM						100.0						100.0	

伸缩振动相关,可能与黄酮、苷类等成分有关; 772、613 cm^{-1} 可能与多糖含量有关^[16-17]。

综合分析 6 种“金银花”类药材均含有黄酮、有机酸、环烯醚萜、多糖等成分。此外,6 种忍冬属药材的近、中红外光谱特征峰峰形、峰位基本一致,且

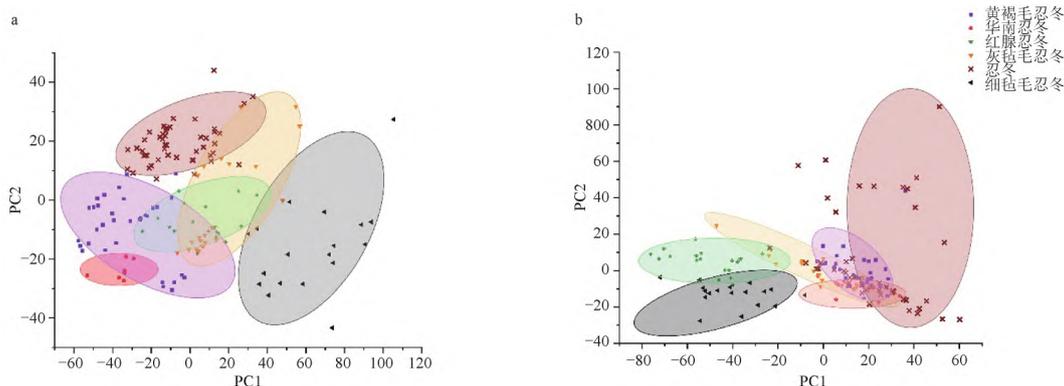
相似度高,表明它们的整体化学组成相似,但各种官能团引起的振动吸收强度存在差异,表明它们的化学成分积累量存在差异。因此,仅对比 6 种不同基原“金银花”类药材的近、中红外光谱图来识别它们存在困难,故进一步采用化学计量学模型对样品进

行比较分析。

3.5 主成分分析

将近红外光谱预处理后,进行 PCA 及其可视化。前 2 个主成分的累计贡献率为 98.18%,表明建立的模型能代表近红外光谱中大多数信息。华南忍冬、忍冬、红腺忍冬较好地聚为一类,但黄褐毛忍冬、细毡毛

忍冬、灰毡毛忍冬的聚类效果差,且灰毡毛忍冬与红腺忍冬存在重叠,无法对它们有效区分,可能与它们的整体化学成分相似性高相关,见图 6a。黄褐毛忍冬聚为 2 类,可能与其来自广西隆林、贵州安龙两地相关。因此,综合分析,基于近红外光谱建立的 PCA 模型无法实现对“金银花”类药材的基原进行准确识别。



a. 近红外光谱 PCA 二维得分图; b. 中红外光谱 PCA 二维得分图。

图 6 不同基原“金银花”类药材 PCA 二维得分图

Fig. 6 PCA 2D score plots of origin herbs of "Lonicerae Japonicae Flos"

对不同来源“金银花”类药材的中红外光谱进行可视化分析,前 2 个主成分累计贡献率为 72.70%,表明建立的 PCA 模型对原始光谱的解释能力较好。从 PCA 得分图可以看出,细毡毛忍冬与红腺忍冬聚类效果好,能进行有效区分,见图 6b。忍冬聚为 2 类,可能与它们来自河南、山东两地相关。虽黄褐毛忍冬、灰毡毛忍冬、华南忍冬能聚为一类,但它们与忍冬重叠严重,不能进行有效区分,可能与它们之间的整体化学成分相似度在 99% 以上有关,见表 2。此外,由于光谱数据的复杂性,且不同基原“金银花”类药材差异性低,PCA 作为一种探索性的分析方法,无法很好对它们进行分类^[18]。因此,有必要进一步利用其他有监督的化学计量手段对“金银花”类药材的基原进行识别。

3.6 支持向量机分析

与 PCA 不同,SVM 是有监督的判别方法,能将数据映射到更高维的特征平面,而解决样本数据线性不可分的问题^[19]。近红外、中红外光谱 SVM 模型训练集参数 c 和 g 的优化结果见图 7,发现近红外 SVM 模型交叉验证正确率低于中红外模型。将参数 c 和 g 带入 SVM 进行训练,得到训练集和预测集

的分类正确率见表 7。SVM 模型对训练集的准确率未达到 100%,无法完全实现对“金银花”类药材基原的识别。

3.7 数据融合

鉴于单一光谱建立的 PCA、SVM 模型均无法有效识别出不同基原“金银花”类药材,本实验采用低级、中级融合策略将近红外与中红外数据进行融合,并与 PCA、SVM 联用,以便确定快速识别“金银花”类药材基原的方法。

将近红外与中红外数据串联,得到 145 批样本 \times 3 341 个变量的新矩阵,即为低级数据融合矩阵;基于 PCA 过程中取特征值大于 1 的规则,从近红外光谱中提取前 4 个主成分的累计贡献率达到 98.5%,说明这些主成分已经能够代表原变量所包含的信息。从中红外光谱中提取前 7 个主成分的累计贡献率达到 97.5%,说明这 7 个新的主成分变量能代表原来的 1 841 个波数变量。将近红外、中红外光谱中提取前 4、7 个主成分进行特征融合,得到 145 批样本 \times 11 个变量的新矩阵,即为中级数据融合矩阵。

首先,使用无监督的 PCA 探索低级、中级光谱

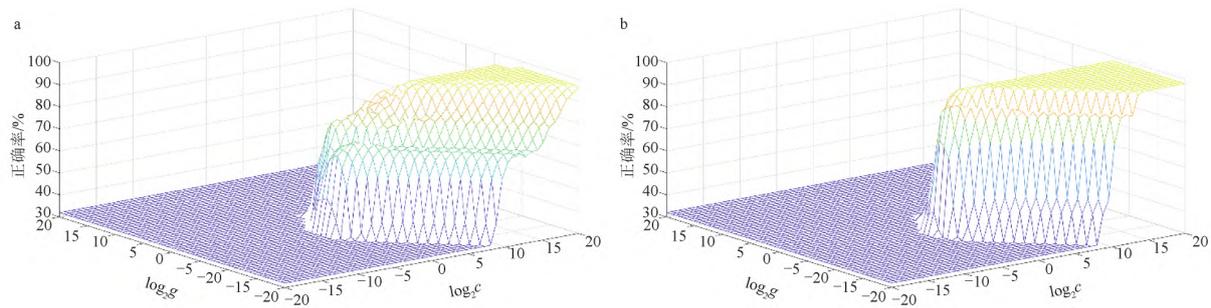
图7 基于近红外(a)与中红外(b)光谱的SVM参数 c 和 g 的优化结果Fig. 7 Optimization results of SVM parameters c and g based on NIR (a) and MIR (b)

表7 基于近红外、中红外建立的SVM模型的预测

Table 7 Prediction of SVM models based on NIR and MIR

模型类型	c	g	交叉验证准确率/%	训练集正确率/%	预测集正确率/%	误判数
近红外	2 352.534 2	0.001 288 6	96.91	95.88	100.00	4
中红外	3.031 4	0.006 801 2	97.94	98.96	100.00	1

数据是否可用于不同基原“金银花”类药材的识别。忍冬、红腺忍冬、细毡毛忍冬可较好聚为一类,但不同基原“金银花”类药材存在明显的重叠现象,无法对它们进行有效识别,见图8a。相较于单一光谱,低级融合对“金银花类”药材基原的区分效果更差,可能与低级数据含有太多的无用信息有关^[20]。基于中级融合建立的PCA模型对6种“金银花”类药材的可视化识别效果大大提升,见图8b。所有“金

银花”类药材大致聚为6类,正好与其6种基原相对应。此外,忍冬与黄褐毛忍冬分别聚为2类,但聚类距离接近,可能与忍冬来自山东、河南,黄褐毛忍冬来自贵州、广西两地有关,推测基于中级融合建立的PCA模型能用于它们产地溯源的研究。但发现红腺忍冬与灰毡毛忍冬仍有重叠的现象,正确将之识别出存在困难,因此采用有监督的SVM对“金银花”类药材基原的识别作进一步分析。

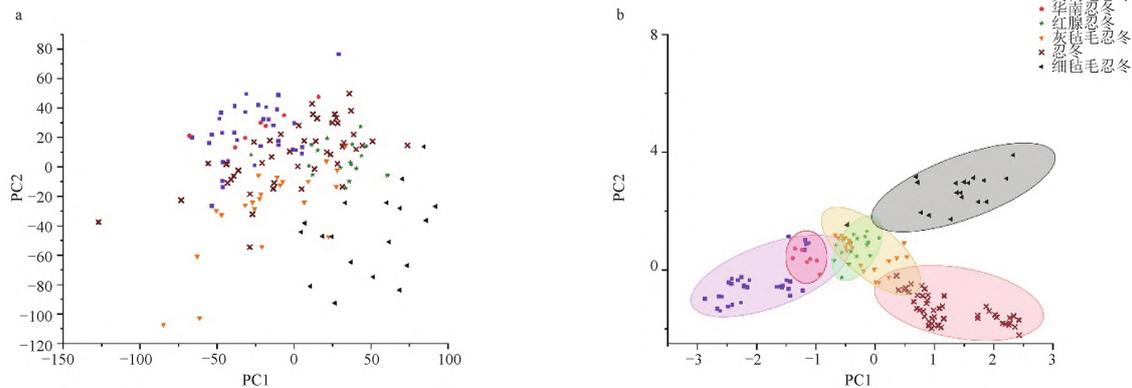


图8 基于数据融合的PCA二维得分图

Fig. 8 PCA 2D score plots based on data fusion

基于低级与中级数据融合建立的SVM模型训练集参数 c 和 g 的优化结果见图9。发现低级数据融合的SVM模型交叉验证正确率低于中级融合模型。将参数 c 和 g 带入SVM进行训练,得到训练集和预测

集的分类正确率见表8。结果显示,基于低级融合的SVM模型对训练集与预测集识别错误数分别为6、2;基于中级融合的SVM模型对训练集与预测集的正确率为100%。此外,不同数据建立的SVM模型对

“金银花”类药材基原识别效果为中级融合>中红外光谱>近红外光谱>低级融合,其中中级数据融合模型分类准确率最高,145份样品识别全部正确,可能与中

级融合能将光谱的特征变量进行融合,且能大大减少干扰变量相关^[9]。综上,基于中级融合建立的SVM模型能用于“金银花”类药材基原的识别。

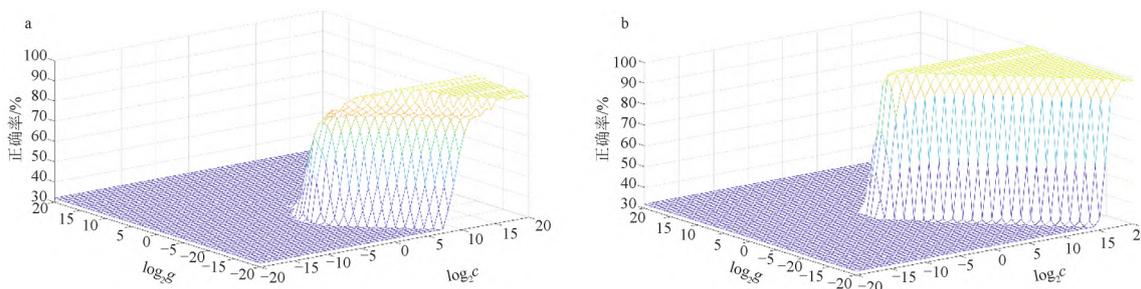


图9 基于数据融合的SVM参数 c 和 g 的优化

Fig. 9 Optimization of SVM parameters c and g based on data fusion

表8 基于低级融合、中级融合建立的SVM模型的预测

Table 8 Prediction of SVM models built based on low-level fusion and mid-level fusion

模型类型	c	g	交叉验证准确率/%	训练集正确率/%	预测集正确率/%	误判数
低级融合	147.033 4	0.000 244 14	93.81	93.81	95.80	8
中级融合	1.741 1	0.329 88	100.00	100.00	100.00	0

4 分析与讨论

“金银花”类药材多基原的品质等效性与差异性问题是中药品质评价的难题,内在成分的类型与差别是评价中药品质的重要依据^[5],王莹等^[21]对华南忍冬、灰毡毛忍冬、红腺忍冬、黄褐毛忍冬及忍冬的品质差异性研究显示绿原酸、异绿原酸A、异绿原酸B、异绿原酸C 4种成分含量存在差异。本研究针对6种基原的“金银花”药材的品质采用灰色关联-TOPSIS法进行评价。使用HPLC测定不同基原“金银花”类药材中绿原酸、咖啡酸、新绿原酸等9种成分含量,基于灰色关联-TOPSIS模型,发现不同基原“金银花”类药材的 C_i 为华南忍冬>细毡毛忍冬>灰毡毛忍冬>红腺忍冬>黄褐毛忍冬>忍冬,即表明它们品质存在差异。结果与传统认为忍冬的品质与成分表征应是正相关的观点不吻合。然而,中药成分组成复杂,且通过多靶点发挥作用^[22],仅使用绿原酸、新绿原酸等9种成分可能无法完全代表不同基原“金银花”类药材的品质。因此,未来可使用质谱等技术^[23]定量更多的化学成分含量,基于灰色关联-TOPSIS模型,在契合中医整体观的情况下,实现不同基原“金银花”类药材品质的全面综合评价。

近年来,近红外和中红外光谱技术被用来解决中药鉴定或溯源问题,显示了在中药质量控制领域的巨大潜力^[24-26]。由于近红外光谱具有能给出样品的整体指纹图谱的特性,常用于中药品种鉴定,且结果良好^[27-28],中红外光谱具有大分子选择性,更易解释光谱信息^[29];两者的结合能更全面表征样品的化学属性^[29]。研究表明单光谱技术的应用无法对6种不同基原的“金银花”类药材进行准确地识别,经采用多种数据融合处理并建立的PCA与SVM模型对“金银花”类药材基原的识别,结果为中级融合模型>中红外模型>近红外模型>低级融合。可见,将不同光谱技术的数据矩阵在不同的数据融合策略下对光谱识别能力的提升存在差异。其中低级数据融合建立的PCA、SVM识别能力低,这与孙飞等^[30]的结果相似,可能与低级融合仅是通过简单串联的方式将近红外与中红外光谱直接进行拼接,数据量大幅增加,在增加了有效信息的同时也引入了大量的无关变量与噪音^[31]。中级融合通过对光谱数据进行特征提取,去掉了冗余数据^[9]。因此,基于中级数据融合建立的SVM模型对6种基原“金银花”类药材的识别准确率达到100%。因此,未来可通过数据的处理与融合技术提高数据特征提取的

精准性;利用云平台开展多光谱数据的采集和数据的融合处理形成技术集成,为中药品种品质的鉴定提供新的快速检测手段。

【参考文献】

- [1] 李萌萌,王倩,孟露,等.忍冬鉴别研究进展[J].石家庄学院学报,2021,23(6):148.
- [2] 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,2020:32,230.
- [3] 吕盼.细毡毛忍冬的化学成分及总黄酮和绿原酸制备工艺的研究[D].成都:成都中医药大学,2012.
- [4] 王闯予,李国卫,索彩仙,等.不同基原忍冬属药材指纹图谱的建立[J].中草药,2021,52(14):4353.
- [5] 马丽霞,杨怀瑾,张佳,等.中药制剂质量与临床疗效的保障:中药品质传递过程控制[J].中国实验方剂学杂志,2021,27(14):222.
- [6] 张娜,翁伟锋,魏坤盛,等.基于灰色关联度与TOPSIS融合模型对不同产地广西郁金的质量评价[J].中国实验方剂学杂志,2020,26(3):137.
- [7] GAO W, YANG H, QI L W, et al. Unbiased metabolite profiling by liquid chromatography-quadrupole time-of-flight mass spectrometry and multivariate data analysis for herbal authentication: classification of seven *Lonicera* species flower buds [J]. J Chromatogr A, 2012, 1245: 109.
- [8] 司晶晶,赵霞,赵鲲鹏,等.黄芪主要化学成分及光谱技术在其质量评价中的应用研究进展[J].甘肃中医药大学学报,2022,39(3):8.
- [9] 戴嘉伟,王海朋,陈瀑,等.多光谱数据融合分析技术的研究和应用进展[J].分析化学,2022,50(6):839.
- [10] DEARING T I, THOMPSON W J, RECHSTEINER C E, et al. Characterization of crude oil products using data fusion of process Raman, infrared, and nuclear magnetic Resonance (NMR) spectra[J]. Appl Spectrosc, 2011, 65(2):181.
- [11] ARNEBERG R, RAJALAHTI T, FLIKKA K, et al. Pretreatment of mass spectral profiles: application to proteomic data[J]. Anal Chem, 2007, 79(18):7014.
- [12] KENNARD R W, STONE L A. Computer aided design of experiments [J]. Technometrics, 2012, 11(1):137.
- [13] 刘思峰,蔡华,杨英杰,等.灰色关联分析模型研究进展[J].系统工程理论与实践,2013,33(8):6.
- [14] ABOSINNA M A, AMER A H, IBRAHIM A S. A TOPSIS based approach for large scale multi-objective non-linear programming problems with block angular structure[J]. Bull Stat Econ, 2007, A07:61.
- [15] 刘征辉,魏静娜,赵琳琳,等.近红外光谱技术在金银花和山银花判别中的应用研究[J].中国现代中药,2020,22(1):58.
- [16] 龚海燕,罗晓,雷敬卫,等.不同产地金银花中红外光谱分析[J].中医学报,2016,31(1):96.
- [17] 邹婧,刘慧茹,唐春伟,等.不同产地金银花的红外光谱鉴定[J].贵州农业科学,2020,48(3):107.
- [18] GAD H A. Application of chemometrics in authentication of herbal medicines: a review[J]. Phytochem Anal, 2013, 24(1):1.
- [19] BRERETON R G, LLOYD G R. Support vector machines for classification and regression [J]. Analyst, 2010, 135(2):230.
- [20] BLANCO M, CUEVA-MESTANZAE R, PEGUERO A. NIR analysis of pharmaceutical samples without reference data: improving the calibration [J]. Talanta, 2011, 85(4):2218.
- [21] 王莹,郝江波,陈佳佳,等.基于主要化学成分差异的金银花与山银花种质资源系统评价研究[J].中南药学,2020,18(5):825.
- [22] 贾灵芝,吴琦,杨绪芳,等.基于灰色关联-TOPSIS法评价不同产地山楂质量[J].中草药,2021,52(23):7317.
- [23] 黄华靖,江洁怡,肖观林,等.UPLC-Q-TOF-MS法分析猫爪草化学成分[J].中成药,2022,44(7):5.
- [24] WANG Y, MEI M, NI Y, et al. Combined NIR/MIR analysis: a novel method for the classification of complex substances such as *Illicium verum* Hook. F. and its adulterants [J]. Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc, 2014, 130:539.
- [25] 王秋悦,吴晨璐,赵静,等.基于近红外光谱的药用辅料油的质量控制研究进展[J].世界中医药,2021,16(23):3429.
- [26] 王闯予,刘丽萍,朱德全,等.甘草配方颗粒多指标成分的近红外快速检测方法[J].今日药学,2020,30(6):385.
- [27] KAJINO A, BAI W, YOSHIMURA N, et al. Identification of peach and apricot kernels for traditional Chinese medicines using near-infrared spectroscopy [J]. Vib Spectrosc, 2021, 113:103202.
- [28] 范林宏,范文翔,韦志强,等.近红外光谱技术结合化学计量学在中药分析中的应用现状[J].中国实验方剂学杂志,2019,25(24):205.
- [29] SUN F, CHEN Y, WANG K Y, et al. Identification of genuine and adulterated *Pinellia ternata* by mid-infrared (MIR) and near-infrared (NIR) spectroscopy with partial least squares-discriminant analysis (PLS-DA) [J]. Analytical Letters, 2020, 53:937.
- [30] 孙飞,陈雨,王凯洋,等.基于红外光谱数据融合的姜半夏鉴别方法研究[J].北京中医药大学学报,2019,42(10):7.
- [31] HU P, XIU W, LI Y, et al. Speciation of mercury by hydride generation ultraviolet atomization-atomic fluorescence spectrometry without chromatographic separation [J]. Microchem J, 2018, 143:228.

【责任编辑 吕冬梅】