第42卷，第6期
2022年6月

光 谱 学 与 光 谱 分 析
Spectroscopy and Spectral Analysis

Vol. 42, No. 6, pp1774-1780
June, 2022

# 基于显微聚焦拉曼光谱技术的丹参产地鉴别研究

李 庆[1,2]，许 莉[1,2]，彭善贵[1,2]，罗 霄[1,2]，张蓉琴[1,2]，严铸云[3]，文永盛[1,2*]

1. 成都市药品检验研究院，四川 成都 610045
2. 国家药品监督管理局中药材质量监测评价重点实验室，四川 成都 610045
3. 成都中医药大学，四川 成都 611137

**摘 要** 产地是影响中药材质量的重要因素，产地差异导致中药材质量参差不齐，为维护市场秩序，有必要建立中药材产地鉴别方法，以便更加精准地判别和分析中药材品质。以多产地临床大宗药材丹参为研究对象，收集不同产地丹参样品150份，采用显微聚焦拉曼光谱技术在无损条件下对每份丹参样品的每根药材表面随机扫描1～$n$次，求每份样品扫描1～$n$次的平均光谱。分析原始光谱数据发现丹参表面光谱信号同时包含了丹参酮类成分的拉曼光谱和杂质的荧光光谱，主要表现在特定波长范围内不同产地丹参存在各自的聚集区和丹参表面光谱信号强度明显弱于或强于丹参酮类对照品的拉曼光谱信号强度。对扫描1～$n$次的平均光谱数据进行预处理后运用偏最小二乘判别分析(PLS-DA)和随机森林分类算法[不筛选(RF)或筛选重要变量(RF-VS)]建立扫描1～$n$次的丹参产地分类模型。结果随机扫描1次所得最优模型训练集和测试集预测准确率分别为88%和87%，且对质量差和质量优的丹参样品区分准确率高达97%；随机扫描2次和3次所得最优模型训练集和测试集预测准确率均分别为89%和87%，结合模型运行效率和成本，选择随机扫描1次所得光谱，经一阶导数(1ST-D)预处理和RF-VS计算所得模型为丹参最终产地鉴别模型。综上，在无损伤条件下显微聚焦拉曼光谱技术能建立快速、准确的丹参产地鉴别预测模型，为该技术进一步用于贵细中药材的产地和真伪鉴别提供参考。

**关键词** 拉曼光谱；丹参；产地鉴别

**中图分类号**：O657.3 **文献标识码**：A **DOI**：10.3964/j.issn.1000-0593(2022)06-1774-07

## 引 言

中药材产地识别是中医药界保证临床用药安全有效的重要手段，《神农本草经》明确提出“土地所出，真伪陈新”；《本草衍义》谓：“用药必择州土所宜者，则药力具，用之有据”；李时珍在《本草纲目》中谓：“性从地变，质与物迁”。丹参为唇形科植物丹参 *Salvia miltiorrhiza* Bge. 的干燥根和根茎，常用于治疗心血管疾病[1]。丹参除河南、山东、四川传统产地外，陕西、湖北、河北、安徽、山西、江苏、云南和贵州等地也在栽培，不同产地的丹参质量差异大[2]。常规的性状鉴别、显微鉴别和薄层色谱鉴别难以识别丹参产地。虽然液相色谱[3]、质谱联用[4]和分子标记[5]也用于丹参产地研究，但这些方法耗时、消耗化学试剂，不能满足市场中药材、尤其是贵细中药材的快速无损伤鉴定需要。

显微聚焦拉曼技术是一种微区分析技术，具快速、无损、结果直观等优点，已在文物、宝石和生物医学等多个领域得到应用，也用于中药质量分析[6-7]。但样品在无损伤条件下，增加扫描位点以获取样品整体光谱信息，再结合化学计量学建立中药材产地鉴别模型的研究鲜有报道。本文以丹参为研究对象，利用显微聚焦拉曼技术对不同产地丹参样品每根药材表面随机扫描1～$n$次，获取每份样品1～$n$次的平均光谱数据，经数据前处理后用偏最小二乘判别分析(partial least squares-discriminant analysis，PLS-DA)和随机森林分类算法[不筛选(random forest，RF)或筛选重要变量(RF-VS)]建立不同扫描次数的丹参产地识别模型，为该技术应用于中药材产地鉴别提供参考。

**收稿日期**：2021-03-31，**修订日期**：2021-09-19

**基金项目**：四川省重大科技专项(2018TZDZX0007)，四川省科技厅重点研发项目(2021YFS0045)，国家自然科学基金项目(81973416)资助

**作者简介**：李 庆，1980年生，成都市食品药品检验研究院检验员 e-mail：liqqin2001@outlook.com

*通讯作者 e-mail：1245551207@qq.com

## 1　实验部分

### 1.1　样品

2020 年 9 月至 12 月自 7 个省采集 150 份栽培丹参样品，除杂后于 50 ℃烘干备用。所有样品均经成都中医药大学严铸云教授鉴定为丹参(*Salvia miltiorrhizae* radix et rhizoma)正品，样品详细信息见图 1 和附表 1。

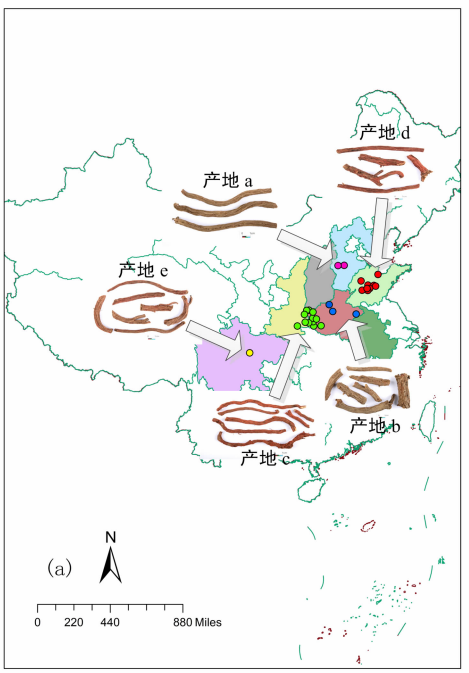



**图 1　丹参产地及其代表性样品图**

**Fig. 1　Origins of danshen and their representative samples**

**附表 1　150 份丹参样品信息**

**Attached Table 1　Information of 150 samples of danshen**

| 采样区域(见图 1) | 采样点(见图 1) | 样本数量 | 土壤类型 | 地貌 |
|---|---|---|---|---|
| a | 粉色点 | 17 | 沙质 | 平原 |
| b | 深蓝色点 | 17 | 沙质 | 平原 |
| c | 亮绿色点 | 67 | 黄棕 | 丘陵 |
| d | 红色点 | 30 | 黄棕 | 丘陵 |
| e | 黄色点 | 19 | 黄棕 | 丘陵 |

根据各采集地的地理位点远近、土壤类型及丹参外观性状归纳丹参产地。由图 1 可知，河北、四川和山东在区位上较为独立，分别可归为产地 a，e 和 d。图中亮绿色采样点分布于河南、山西、陕西，区位上彼此非常接近，将这些采样点归为产地 c。但河南两个采样点温县、禹州及安徽亳州采样点(图蓝色位点)均位于黄河下游冲击平原，土壤为沙质(见附表 1)，这三个样点所产丹参外观表面土灰色，明显不同于产地 c 和 d 的外观暗棕红色的丹参(见图 1)，且含量测定结果(待发表)发现该三个样点的丹参样品丹参酮类含量整体明显低于产地 c 和 d，因此，将该三个采样点归为产地 b。

### 1.2　样品

隐丹参酮(110852—201807)、丹参酮 Ⅱ A(110766—202022，TA2)和丹参酮 Ⅰ(110867—201607)购自中国食品药品检定研究院，纯度均高于 97%。二氢丹参酮 Ⅰ(MUST-15020102)购自成都曼斯特生物科技有限公司，纯度高于 98%。

### 1.3　仪器

DXR 显微聚焦拉曼光谱仪(美国，赛默飞世尔科技公司)。

### 1.4　数据采集

显微聚焦拉曼光谱仪检测时激光波长 780 nm；激光功率 5 mW；波数范围 50～3 350 $cm^{-1}$；采集曝光时间 3 s；检测精度 1 $cm^{-1}$。考虑到测试成本，在无损伤条件下，本文仅对每份样品的每根药材表面随机扫描 1～3 次，对不同扫描次数所得光谱数据求平均，得到每份样品扫描 1 次、2 次、3 次的平均光谱数据。四个丹参酮类对照品分别扫描一次即得拉曼光谱数据。

### 1.5　数据处理和模型建立

#### 1.5.1　数据预处理和样本集的划分

为消除基线漂移，降低随机噪音，提取光谱有效信息，本文使用常用的标准正态变换(standard normal variable transformation，SNV)、多元散射校正(multiplicative scatter correction，MSC)、1ST-D、二阶导数(second derivative，2ND-D)、三阶导数(third derivative，3RD-D)对原始光谱进行前处理[8]。

随机选取三分之二的样本作为训练集，剩余三分之一的样本作为测试集。

#### 1.5.2　模型建立

(1)PLS-DA 模型：在全波段条件下，利用 PLS-DA 建立丹参产地识别模型。采用 7 折交叉验证的交叉验证均方根误差(RMSECV)的最小值确定最适隐变量数(LVs)。使用 Simca (Version 13.0，Umetrics，Sweden)软件完成 PLS-DA 模型的建立。

(2)RF 和 RF-VS 模型：应用 RF 建立丹参产地识别模型。对两个重要参数决策树数量(n-estimator)和最大特征数量(Max-feature)分别在 0～500 和 0～120 范围进行优化，选取袋外误差(out-of-bag score，Oob_score)最小的参数作为建模参数。

在全波段条件下建立 RF 模型。同时，随机选取训练集的五分之四样本用来计算变量的重要性，重复 500 次，使用基尼指数评价变量的重要性；再根据变量的重要性范围，筛选重要变量，筛选幅度为变量重要性范围的 1/40，使用五折交叉验证寻找不同的界值，各界值对应的重要变量建立不同的模型；根据模型平均预测准确率筛选出最优 RF-VS 模型和相应的最优界值。使用 Python 语言完成 RF 和 RF-VS 模型。

(3)模型评价：采用训练集的预测准确率(accuracy，ACC)和测试集的预测准确率来评价模型区分能力，ACC 值越大，模型性能越好。

## 2 结果与讨论

### 2.1 光谱分析

图 2(a)，(b)和(c)分别为扫描 1、2 和 3 次所得原始光谱图，图 2(d)为丹参酮类成分丹参酮ⅡA、隐丹参酮、二氢丹参酮和丹参酮Ⅰ的原始光谱图，波段范围均为 50～3 350 $cm^{-1}$。

由图 2(d)可知，丹参酮类成分在相同的位置具相似的吸收峰，但存在强度差异，如在 2 900，1 550 和 1 620 $cm^{-1}$ 位置分别是隐丹参酮、丹参酮Ⅰ和丹参酮$ⅡA$ 吸收峰最强。丹参酮类成分各主要特征峰的归属[9-11]：在吸收位置 2 900 $cm^{-1}$ 及其附近的峰归属于丹参酮类成分中烯烃或苯环的 C—H 的伸缩振动，1 620 和 1 550 $cm^{-1}$ 归属于丹参酮类成分酮类的 C═O 伸缩振动和烯烃或苯环的 C═C 伸缩振动，1 300和 1 360 $cm^{-1}$ 归属于丹参酮类成分甲基的 C—H 的弯曲振动，1 070 和 1 190 $cm^{-1}$ 位置的吸收峰为丹参酮类成分环氧的 C—O—C 伸缩振动，872 $cm^{-1}$ 附近的吸收峰为丹参酮类成分环氧的 C—O 伸缩振动和烯烃或苯环的 C—H 面外弯曲振动，705，586，506 和 270 $cm^{-1}$ 位置的吸收峰归属为丹参酮类成分甲基的 CH 面外弯曲振动和其混合振动。

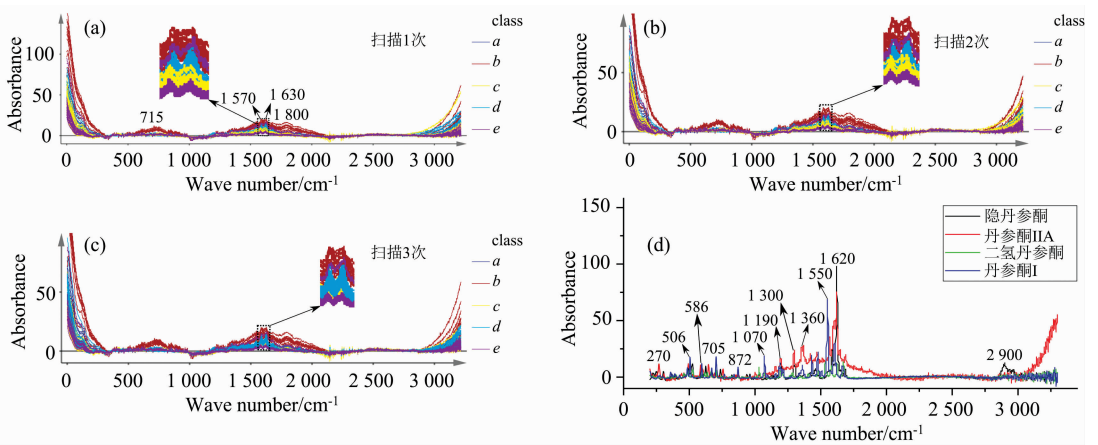
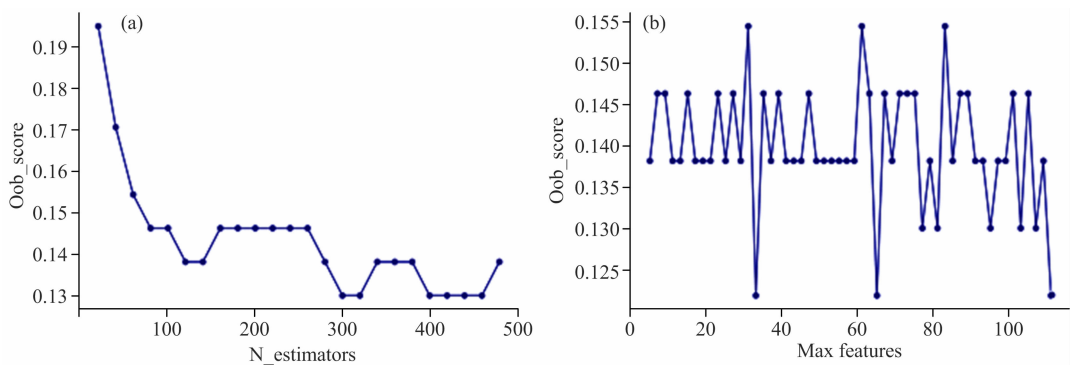



**图 2 丹参表面不同扫描次数和丹参酮类成分的原始光谱**

**Fig. 2 Original spectra of surface of danshen with different scanning times and tanshinone components**

由图 2(a)可知，不同产地丹参的拉曼光谱图彼此之间既有重叠区又有各自的聚集区，如 2 100～2 800 $cm^{-1}$ 范围明显重叠；而在 1 570～1 630 $cm^{-1}$ 范围内，由上至下依次为产地 b，产地 e 部分样品，产地 d，产地 c，产地 a 和产地 e 的部分样品；处于高波数(大于 3 000 $cm^{-1}$)和低波数(小于 250 $cm^{-1}$)范围的不同产地样品同样存在各自聚集区。需要指出的是，产自 a 和 b 的样品丹参酮类成分含量明显低于其他产地样品，但在图 2(a)中，产地 a 和 b 丹参样品的拉曼光谱吸收强度并不弱，反而产地 b 丹参样品的光谱吸收最强，这可能是由于丹参样品表面除了丹参酮类成分，还含有其他杂质成分，其所产生的荧光信号占主导，导致丹参酮类成分含量低的产地 b 的丹参样品表面光谱信号反而更强。

由图 2(a)，(b)和(c)可知，不同测定次数下所得平均原始光谱图十分接近，但也存在细微差异。以 1 570～1 630 $cm^{-1}$ 范围为例，图 2(a)和(b)中各产地样品的光谱曲线由上至下的分布较一致，但图 2(c)中产地 d，c 和 a 三者重叠在一起，表明从原始数据看，增加扫描次数可能不能改善产地识别效果。将图 2(a)，(b)，(c)与(d)对比，尽管丹参样品表面




**附图 1 随机森林模型参数优化结果图**

(a)：n_estimators 与 OOB_SCORE 关系图；(b)：max_features 与 OOB_SCORE 关系图

**Attached Fig. 1 Optimization results of random forest model parameters**

(a)：The relationship diagram between n_estimator and OOB_SCORE；(b)：The relationship diagram between max_features and OOB_SCORE

与丹参酮类成分的拉曼光谱图较相似，但图 2(d)中丹参酮类对照品吸收峰更强更尖锐；另一个差异是在高波数和低波数区，丹参样品的吸收强度明显大于丹参酮类成分(除丹参酮ⅡA 外)，原因同样是丹参样品表面杂质产生的荧光效应，减弱或增强了丹参样品表面光谱信号。综上，杂质改变了丹参样品表面的拉曼光谱信号，不同产地的杂质成分不同，这有利于丹参表面光谱数据用于产地溯源。

### 2.2　PLS-DA 模型

6 个 PLS-DA 模型的详细结果见附表 2 所示，详细的结果分析见下文。

### 2.3　随机森林模型的参数优化

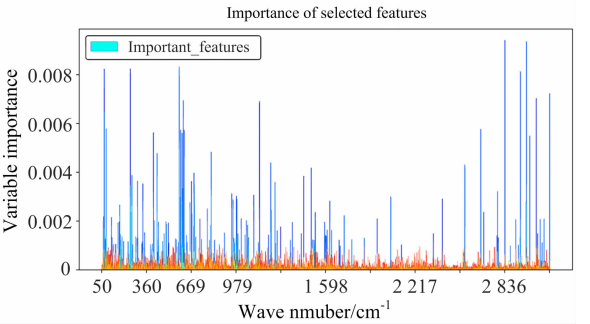
对随机森林的两个重要参数 n_estimators 和 max_features 进行优化。最终仅提供扫描一次、1ST-D 预处理后获得的 RF-VS 模型的参数优化图(见附图 1)。如附图 1 所示，最佳参数为 300 棵树、最大特征为 32 时的 Oob_score 最小。

### 2.4　随机森林模型建立

由附表 2 可知，使用 1ST-D 预处理随机扫描 1 次所得光谱数据，经 RF-VS 计算可得最适模型(训练集和测试集的准确率分别为 88%和 87%)。以该模型为例，计算 1ST-D 预处理后的原始光谱数据的 3 215 个变量重要性，见附图 2，可知变量重要性范围在0.000 009和0.009 775之间，表明不同变量对模型的产地预测效果存在贡献差异，需提取出重要特征建模变量。由附表 2 可知，经交叉验证筛选，最适界值为 0.009 207，其对应的变量为 167 个，即可建立最优模型。

### 2.5　分类模型的比较

附表 2 列出了随机扫描 1 次、2 次和 3 次所得原始数据和五种数据前处理方法所得数据，经 PLS-DA，RF 和 RF-VS 计算的训练集和测试集准确率。




**附图 2　经 1ST-D 处理后的光谱变量的重要性与波数的关系图**

**Attached Fig. 2　The relationship between the importance of spectral variables after 1st-d processing and wave numbers**

#### 2.5.1　扫描一次条件下各分类模型的比较

由附表 2 可知，在 PLS-DA 建立的模型中，原始数据经五种数据预处理后所得模型的准确率较原始数据建立的模型准确率并没有得到较好的改善，这表明数据的前处理过程可能丢失了更为重要的信息。仅 MSC 预处理后所得模型的准确率有轻微改善，其训练集准确率 74%，预测集准确率 68%，表明该模型性能一般。由该模型的测试集混淆矩阵表可知(见附表 3)，该模型对质量差的产地 b 样本能 100%区分，但对质量差的产地 a 的 4 个样本和质量好的产地 e 的 4 个样本的预测准确率均为 0，需进一步用其他分类算法建立区分性能更好的模型。

**附表 2　不同测定次数条件下所建模型结果**

**Attached Table 2　The results of the model under the conditions of different determination times**

| 测定次数 | 模型 | 数据前处理方法 | 训练集 ACC | 测试集 ACC | 主成分数 | 变量数/个 | 界值 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 测定一次 | PLS-DA | Original data | 73 | 68 | 2 | 3 216 | |
| | | MSC | 74 | 65 | 3 | 3 216 | |
| | | SNV | 69 | 68 | 2 | 3 216 | |
| | | 1ST-D | 74 | 68 | 2 | 3 215 | |
| | | 2ND-D | 69 | 68 | 2 | 3 214 | |
| | | 3RD-D | 69 | 65 | 2 | 3 213 | |
| | RF | Original data | 83 | 87 | | 3 216 | 0 |
| | | MSC | 86 | 87 | | 3 216 | 0 |
| | | SNV | 82 | 68 | | 3 216 | 0 |
| | | 1ST-D | 87 | 81 | | 3 215 | 0 |
| | | 2ND-D | 87 | 84 | | 3 214 | 0 |
| | | 3RD-D | 87 | 81 | | 3 213 | 0 |
| | RF-VS | Original data | 86 | 87 | | 87 | 0.013 837 |
| | | MSC | 86 | 87 | | 366 | 0.008 228 |
| | | SNV | 81 | 77 | | 295 | 0.010 197 |
| | | **1ST-D** | **88** | **87** | | **167** | **0.009 207** |
| | | 2ND-D | 88 | 81 | | 29 | 0.014 741 |
| | | 3RD-D | 88 | 87 | | 198 | 0.009 325 |

续附表 2

| | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | Original data | 71 | 68 | 2 | 3 216 | |
| | | MSC | 74 | 65 | 3 | 3 216 | |
| | PLS-DA | SNV | 70 | 65 | 2 | 3 216 | |
| | | 1ST-D | 73 | 68 | 2 | 3 215 | |
| | | 2ND-D | 70 | 68 | 2 | 3 214 | |
| | | 3RD-D | 69 | 65 | 2 | 3 213 | |
| | | Original data | 87 | 81 | | 3 216 | 0 |
| | | MSC | 85 | 84 | | 3 216 | 0 |
| 测定二次 | RF | SNV | 82 | 71 | | 3 216 | 0 |
| | | 1ST-D | 88 | 77 | | 3 215 | 0 |
| | | 2ND-D | 88 | 77 | | 3 214 | 0 |
| | | 3RD-D | 88 | 77 | | 3 213 | 0 |
| | | Original data | 86 | 84 | | 3 215 | 0.011 960 |
| | | MSC | 87 | 84 | | 101 | 0.007 782 |
| | RF-VS | SNV | 84 | 77 | | 319 | 0.008 426 |
| | | 1ST-D | 87 | 84 | | 3 214 | 0.009 207 |
| | | 2ND-D | 87 | 87 | | 3 213 | 0.014 382 |
| | | **3RD-D** | **89** | **87** | | **99** | **0.013 165** |
| | | Original data | 71 | 68 | 2 | 3 216 | |
| | | MSC | 74 | 65 | 4 | 3 216 | |
| | PLS-DA | SNV | 71 | 65 | 2 | 3 216 | |
| | | 1ST-D | 73 | 68 | 2 | 3 215 | |
| | | 2ND-D | 69 | 68 | 2 | 3 214 | |
| | | 3RD-D | 68 | 68 | 3 | 3 213 | |
| | | Original data | 85 | 84 | | 3 216 | 0 |
| | | MSC | 82 | 87 | | 3 216 | 0 |
| 测定三次 | RF | SNV | 84 | 74 | | 3 216 | 0 |
| | | 1ST-D | 89 | 84 | | 3 215 | 0 |
| | | 2ND-D | 89 | 81 | | 3 214 | 0 |
| | | 3RD-D | 90 | 77 | | 3 213 | 0 |
| | | Original data | 86 | 87 | | 78 | 0.011 553 |
| | | MSC | 85 | 84 | | 156 | 0.010 343 |
| | RF-VS | SNV | 83 | 77 | | 218 | 0.008 102 |
| | | 1ST-D | 89 | 84 | | 303 | 0.009 168 |
| | | 2ND-D | 89 | 84 | | 167 | 0.017 988 |
| | | **3RD-D** | **89** | **87** | | **307** | **0.008 811** |

**附表 3 MSC 处理后的建立 PLS-DA 模型的测试集混淆矩阵表**

**Attached Table 3 Test set confusion matrix of PLS-DA model after MSC processing**

| Memerbers | ACC/% | | a | b | c | d | e |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 4 | 0 | a | 0 | 0 | 4 | 0 | 0 |
| 2 | 100 | b | 0 | 2 | 0 | 0 | 0 |
| 12 | 83 | c | 0 | 0 | 10 | 2 | 0 |
| 9 | 100 | d | 0 | 0 | 0 | 9 | 0 |
| 4 | 0 | e | 0 | 2 | 2 | 0 | 0 |
| 0 | | No class | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 1 | 67.74 | Total | 0 | 4 | 16 | 11 | 0 |

同样地，由附表 2 可知，原始数据经五种光谱预处理方法处理后，仅 MSC 所得 RF 模型性能(训练集和预测集准确率分别为 86%和 87%)较原始数据所得模型性能(训练集和预测集准确率分别为 83%和 87%)有所改善。表明经 MSC 处理后所建立的 RF 模型最优，该模型对产地 a 和 b 样本总的预测准确率为 50%，优于 PLS-DA 模型的 33%预测准确率[见附图 3(a)和附表 3]。同时 RF 模型的整体性能要明显优于 PLS-DA 模型。但 RF 模型变量过多，运行耗时，需进一步选择重要建模变量以改善模型性能。

经重要变量筛选所建立的 RF-VS 模型中，应用 1ST-D 对原始数据进行处理后所得模型性能最佳，其训练集和测试集准确率分别为 88%和 87%，重要变量数为 167 个，最佳界值为0.009 207(见附表 2)。尽管最优 RF-VS 模型性能较 RF 模型性能(训练集和预测集准确率分别为 86%和 87%)仅得到轻微改善，但最优 RF-VS 模型产地 a 和 b 样本总的预测准确率 83%，明显优于模型 RF 的 50%和 PLS-DA 的 33%，同时对质量差的来自产地 a 和 b 的丹参样本与产地 c、d 和 e 的

样本之间区分准确率高达 97%，高于最优 RF 模型的 90%和最优 PLS-DA 模型的 81%区分准确率(见附图 3 和附表 3)。另一方面，建模变量降至 167 个，增加了模型的运行速率。但总的准确率不变，经重要变量筛选后的 RF-VS 模型对其他三产地质量较好样本的测试集准确率低于 RF 模型。

综上，选择经 1ST-D 处理后，由 RF-VS 建立的模型为最终模型。

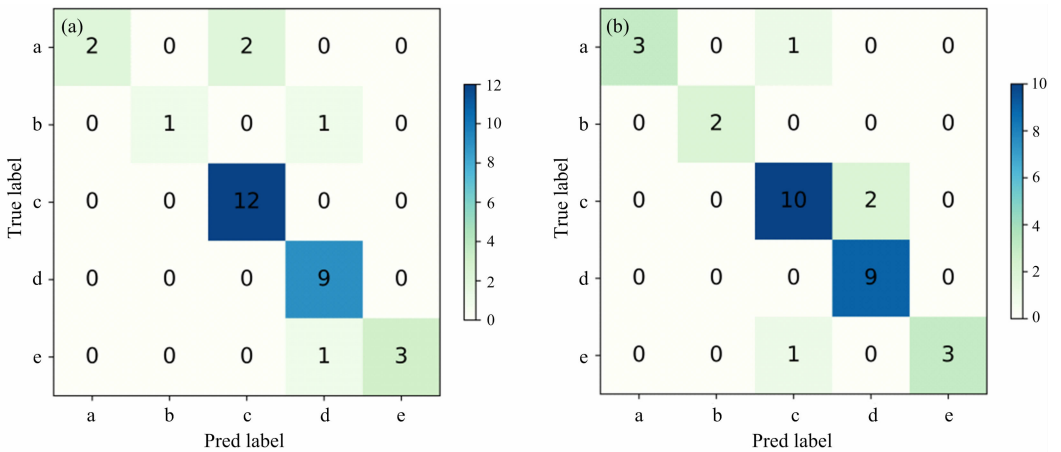



**图 3　最优 RF 模型(a)和最优 RF-VS 模型(b)的测试集的混淆矩阵**

**Attached Fig. 3　The confusion matrix of the test set of the optimal RF model (a) and the optimal RF-VS model (b)**

2.5.2　不同测定次数下分类模型的比较

扫描 1 次、2 次和 3 次所得原始数据和五种数据前处理方法所得数据，经 PLS-DA，RF，RF-VS 运算所得最优模型见表 1。由表 1 可知，扫描 2 次和 3 次的最优模型均经 3RD-D 处理后由 RF-VS 计算所得，其训练集的准确率和测试集的准确率均分别为 89%和 87%，但与扫描 1 次的最优模型(训练集和预测集准确率分别为 88%和 87%)相比，性能改善轻微，再根据每份样品随机扫描 1 次、2 次、3 次所需时间分别大致为 150，300 和 450 min，最终选择每份样品每根药材随机扫描 1 次所得数据，经 1ST-D 预处理，RF-VS 计算所得模型为最终模型。

**表 1　不同扫描次数条件下所建最优模型结果**

**Table 1　The results of best models under the conditions of different scanning times**

| 扫描次数 | 模型 | 数据前处理方法 | 训练集 ACC | 测试集 ACC | 变量数/个 | 界值 |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 扫描一次 | RF-VS | 1ST-D | 88 | 87 | 167 | 0.009 207 |
| 扫描二次 | RF-VS | 3RD-D | 89 | 87 | 99 | 0.013 165 |
| 扫描三次 | RF-VS | 3RD-D | 89 | 87 | 307 | 0.008 811 |

## 3　结　论

显微聚焦拉曼光谱技术具快速、无损、样本需求少等优点，本文尝试利用该技术对不同产地丹参样品每根药材的表面在无损伤条件下进行随机取点，所得原始光谱既包含了样本本身表面丹参酮类成分的信息，也包含了不同产地杂质的信息，这有利于该技术用于丹参产地鉴别。比较了不同扫描次数下，不同分类算法建立的丹参产地鉴别模型，结果样品的每根药材表面随机扫描一次所得光谱数据经 1ST-D 处理，由 RF-VS 计算的丹参产地识别模型性能优良，其训练集和测试集预测准确率分别为 88%和 87%；扫描次数增加为 2 次和 3 次，所得最优模型训练集和测试集预测准确率分别为 89%和 87%，模型性能轻微改善，但测试时间成倍增加，因此选择每份样品每根药材随机扫描一次所得光谱数据建立的最优 RF-VS 模型为最终模型。本研究为显微聚焦拉曼光谱技术应用于中药材尤其是贵细中药材的产地溯源和真伪鉴别提供了重要依据。

## References

[1] Fang J, Little P J, Xu S W. Medicinal Research Reviews, 2017, 38(1): 201.

[2] DENG Ai-ping, GUO Lan-ping, ZHAN Zhi-lai, et al(邓爱平，郭兰萍，詹志来，等). China Journal of Chinese Materia Medica(中国中药杂志), 2016, 41(22): 4274.

[3] Liang W Y, Chen W J, Wu L F, et al. Molecules, 2017, 22: 478.

[4] Ni J L, Zhang F F, Han M Y, et al. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 2019, 170: 295.

[5] Wang H, Hao N, Chen L, et al. Springerplus, 2016, 5(1): 1919.

[6] MING Jing, CHEN Long, CHEN Ke-li, et al(明　晶，陈　龙，陈科力，等). Journal of Chinese Medicinal Materials(中药材), 2017, 40(1): 32.

[7] CHEN Long, MING Jing, YUAN Ming-yang, et al(陈 龙, 明 晶, 袁明洋, 等). Chinese Journal of Experimental Traditional Medical Formulae(中国实验方剂学杂志), 2016, 22(21): 77.
[8] Rinnan A, Berg F V, Engelsen S B. Trends in Analytical Chemistry, 2009, 28(10): 1201.
[9] WANG Ya-xuan, TAN Feng, XIN Yuan-ming, et al(王亚轩, 谭 峰, 辛元明, 等). Spectroscopy and Spectral Analysis(光谱学与光谱分析), 2021, 41(2): 565.
[10] Schulz H, Baranska M. Vibrational Spectroscopy, 2007, 43(1): 13.
[11] ZHU Zi-ying, GU Ren-ao, LU Tian-hong(朱自莹, 顾仁敖, 陆天虹). Application of Raman Spectroscopy in Chemistry(拉曼光谱在化学中的应用). Changchun: Northeast University Press(长春: 东北大学出版社), 1998. 295.

# Research on Identification of Danshen Origin Based on Micro-Focused Raman Spectroscopy Technology

LI Qing[1,2], XU Li[1,2], PENG Shan-gui[1,2], LUO Xiao[1,2], ZHANG Rong-qin[1,2], YAN Zhu-yun[3], WEN Yong-sheng[1,2*]
1. Chengdu Institute for Drug Control, Chengdu 610045, China
2. NMPA Key Laboratory for Quality Monitoring and Evaluation of Traditional (Chinese Medicine Chinese Materia Medica), Chengdu 610045, China
3. Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu 611137, China

**Abstract** The origin is an important factor affecting the quality of Chinese herbal medicine. The difference of origin leads to the uneven quality of Chinese herbal medicine. In order to maintain the market order, it is necessary to establish the method of identification of the origin of Chinese herbal medicine to identify and analyze the quality of Chinese herbal medicine more accurately. This article takes danshen, a major clinical medicinal material, from many origins as the research object, and 150 samples of danshen were collected from different origins. The surface of each root of danshen sample was scanned $1\sim n$ times randomly by micro focusing Raman spectroscopy under non-destructive conditions, and the average spectrum of each sample was calculated. By analyzing the original spectral data, it is found that the surface spectral signal of danshen contains both the Raman spectra of tanshinones and the fluorescence spectra of impurities. Mainly reflected in that danshen from different origins has their aggregation regions, and the signal intensity of the surface spectral signal of danshen is significantly weaker or stronger than that of tanshinones in the specific wavelength range. After preprocessing the spectral data of $1\sim n$ scans, the classification model of danshen origin was established by partial least squares discriminant analysis (partial least squares-discriminant analysis, PLS-DA) and random forest classification algorithm [no screening (random forest, RF) or screening of important variables (RF-VS)]. Results the training set and test set accuracy of the optimal model obtained by random 1 scanning were 88% and 87% respectively, and the samples with low quality and high quality could be distinguished with an accurate of 97%; the training set and test set accuracy of the optimal model obtained by random scanning 2 and 3 times were both 89% and 87% respectively. Combined with the operation efficiency of the model The spectrum obtained by random 1 scanning was selected, and the identification model of the origin of danshen was obtained by first derivative (1ST-D) pretreatment and RF-VS calculation. In conclusion, the micro focused Raman spectroscopy technology can establish a rapid and accurate prediction model of the origin of danshen under non-invasive conditions and provide a reference for the further application of this technology in identifying the origin and authenticity of expensive and scarce Chinese herbal medicine.

**Keywords** Raman spectroscopy; Danshen; Identification of the origin

(Received Mar. 31, 2021; accepted Sep. 19, 2021)

* Corresponding author