

出國報告(出國類別：交流)

食品及藥品檢驗技術與數據庫分析 應用

服務機關：衛生福利部食品藥物管理署
姓名職稱：黃昱綺技士、賴思羽技士、陳品秀技士
派赴國家：中國
出國期間：106年11月05日至106年11月10日

報告日期：106年12月5日

壹、摘要

近年來食品及藥品摻偽事件頻傳，發展快速確認之分析技術可以協助檢驗有效率的進行，擴增不法產品檢驗的量能。紅外光光譜儀雖然傳統上僅使用於純物質之檢驗，但近年來已逐漸應用在混合物的分析。因紅外光光譜儀有前處理簡單、不破壞樣品等優點，極為適合開發成為快速篩檢的方法。

2016 年，本組已派員至北京清華大學孫素琴研究員研究室，學習紅外光光譜的檢驗三大方法：三級鑑別法、整體解析法及專家識別法；九項措施：經典紅外光譜、二階導數光譜、二維相關光譜、主體成分解析、特定分析解析、相對含量比較、光譜數據庫檢索、相似度量化比較及多組分定量分析。此次，職等再次奉派至北京清華大學孫老師研究室，交流兩岸的紅外光光譜檢驗技術及實務應用於不法產品檢驗成效及限制，並進一步討論該如何克服檢驗限制。除此之外，為更大範圍蒐集中藥材，特別前往中國四大藥材市場之一的河北安國藥材市場，進行中藥材收集，以期可以更健全我國中藥材標本庫內容。

貳、目次

壹、摘要.....	1
貳、目次.....	2
參、本文.....	3
一、目的.....	3
二、過程.....	4
三、課程內容.....	9
四、紅外光光譜分析結果_ATR 法.....	15
五、紅外光光譜分析結果_壓片法.....	25
六、相似度量化比較軟體應用.....	37
七、心得及建議.....	45
肆、附錄.....	48

參、本文

一、目的

105年9月24日北京清華大學研究員孫素琴老師至本署進行了一場紅外光宏觀組學的演講，介紹了紅外光譜於中藥材誤用、摻偽及食品摻偽檢驗的應用，演講中孫老師直接明白的傳達了紅外光光譜於中藥材及食品檢驗上更多的可能性。105年11月13日，職等第一次赴孫老師研究室學習紅外光光譜分析之三大方法(三級鑑別法、整體解析法及專家識別法)及九項措施(經典紅外光譜、二階導數光譜、二維相關光譜、主體成分析、特定分析解析、相對含量比較、光譜數據庫檢索、相似度量比較及多組分定量分析)。返國後，積極嘗試將所學之光學分析技術，應用於未知物檢驗。因為相對於質譜分析技術，紅外光譜分析將檢體視為一個整體，基於紅外光譜的指紋性，將複雜的未知物辨識問題簡單化。此法若能實際應用於例行檢驗，定能縮短未知物檢驗時程、增進本署的檢驗能力，加速打擊不法產品，維護民眾食品及藥物安全。惟，方法開發時因許多問題無法克服，未能設計出針對未知物的簡易初篩方法。

紅外光光譜之檢驗技術，除了食品及藥物摻偽外，亦可應用於中藥材誤用、產地鑑別及辨別炮製產品等，或提供快速便利之初步辨識。同樣地，在檢驗方法開發上遇到許多困難需要克服。希望以此次習得之交流，針對紅外光光譜檢驗技術及實務應用於不法產品檢驗成效及限制，進一步討論如何克服檢驗限制，加速簡易初篩方法的開發。此外，此次拜訪中國四大藥材市場之一的河北安國藥材市場及北京同仁堂購入多項中藥材，擴增本署中藥材標本庫之內容，供日後中藥材檢驗所需。

二、過程

於 106 年 11 月 5 日赴中國北京清華大學孫素琴老師研究室進行食品及藥品檢驗技術與數據庫分析應用交流，進行紅外線光譜分析儀實務操作訓練、檢驗方法及成果交流，並於 106 年 11 月 10 日返抵國門，行程及工作紀要如下表：

日期	地區及行程	研習內容
106/11/05 (日)	臺北-大陸北京	去程
106/11/06 (一)	北京清華大學	紅外光光譜儀儀器操作：杏仁及桃仁分析
106/11/07 (二)	河北安國藥材市場	購買中藥材
106/11/08 (三)	北京清華大學	1. 紅外光光譜檢驗經驗交流 2. 紅外光光譜儀儀器操作：肉蓯蓉、杏仁、桃仁及蜂蜜之分析
106/11/09 (四)	北京清華大學	1. 化學計量法及其軟體應用 2. 成果報告與討論
106/11/10 (五)	大陸北京-臺北	購買中藥材 回程

北京清華大學

了解紅外光光譜分析於食品、藥物摻偽及中藥材鑑定之應用，並積極開發該法成為未知物檢驗之簡易初篩方法，有助於本署相關檢驗業務執行。與北京清華大學之研究員交流討論，有助於本署蒐集摻偽相關檢驗技術、資訊及實務情形。

人員介紹

孫素琴研究員：

1978 年畢業於清華大學工物系，目前兼任北京理化分析測試技術學會副理事長、"光譜學與光譜分析"副主編、"光散射學報"、"現代儀器"編委及美國藥典委員會 (USP) 脫脂乳粉顧問組專家成員。其主要研究領域：分子振動光譜學 (中紅外光譜、近紅外光譜、拉曼光譜)、二維相關光譜學及其在混合物分析研究中的應用、化學計量學及其在混合物振動光譜解析中的應用、中藥和食品等複雜混合物體系的分析表徵方法學等。並在國際上首次提出了針對複雜混合物的"多級紅外光譜宏觀指紋分析法"。該法是在單分子振動理論的基礎上擴展了多分子振動理論。目前已發表相關學術論文近 300 篇，其中 SCI 論文近 200 篇，獲中國發明專利 3 項，已出版中英文學術專著 4 部之多，多次獲得中國分析測試協會 CAIA 獎，亦多次在國內外舉行的國際會議上受邀演講。

清華大學沿革

根據北京清華大學官方網頁紀載：「清華大學的前身清華學堂始建於 1911 年，1912 年更名為清華學校。1928 年更名為國立清華大學。1937 年抗日戰爭全面爆發後南遷長沙，與北京大學、南開大學組建國立長沙臨時大學，1938 年遷至昆明改名為國立西南聯合大學。1946 年，遷回清華園，設有文、法、理、工、農等 5 個學院、26 個系。」

現今，清華大學已成為一所包含多學科的工業領域大學，重點培養中國工程技術人才，更被譽為"紅色工程師的搖籃"。此外，在該國政府大力支持下，設立

理學、工學、文學、藝術學、歷史學、哲學、經濟學、管理學、法學、教育學和醫學等 11 個學科，成為綜合性的研究型大學，發展人才培養、科學研究、社會服務、文化傳承創新、國際合作交流等(圖 1)。

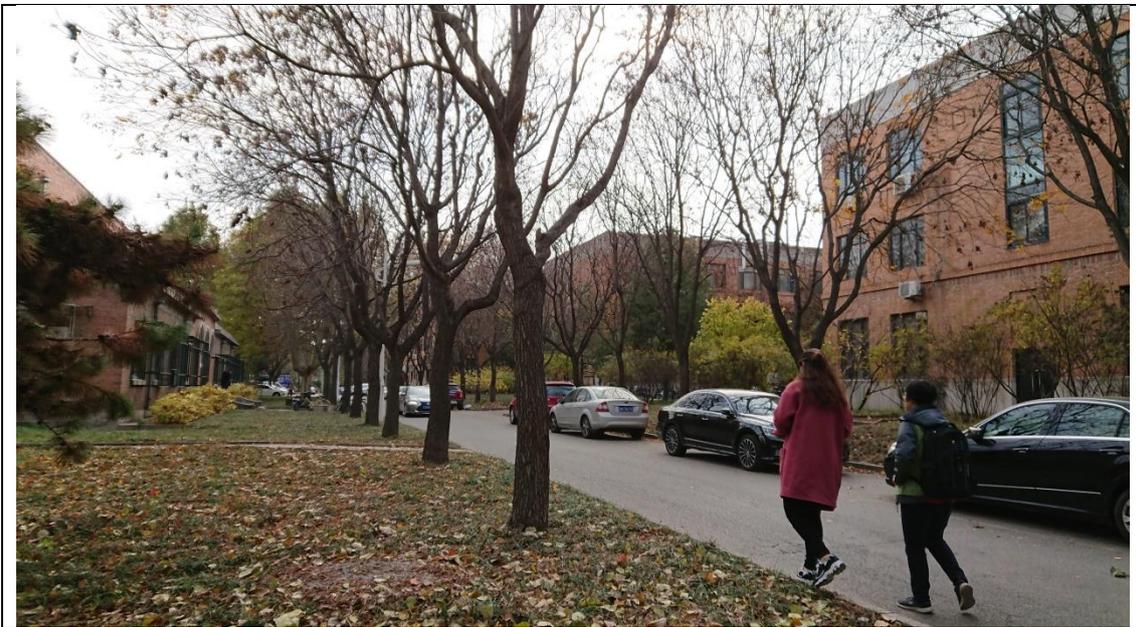


圖 1、北京清華大學校園一景

河北安國藥材市場

此次收集中藥材行程，規劃前往河北省安國東方藥城，亦被稱為「安國數位中藥都」的河北安國藥材市場。以及北京同仁堂、冠城堂等中藥材藥局，蒐集八角、千金拔、大青葉、功勞葉、生何首烏、生蒲黃、白花蛇舌草、白頭翁、灰棗、制川烏、阿膠、珍珠透骨草(地構葉)、海桐皮、鹿角膠、黃明膠(牛皮膠)、黑枸杞、蕭蓄、澤蘭、龜甲膠、鐵線透骨草(黃花鐵線蓮)等共計 31 件藥材，希望藉由此次的藥材蒐集，擴增本署中藥材標本庫之內容，供日後中藥材檢驗所需。

安國市總面積 486 平方公里，耕地 50 平方公里，藥材年產量占全省 65%，為中國的中藥材種植基地。中藥材交易有千年歷史，始於北宋，興於明清，目前是中國最大的中藥材集散地之一，故以「藥都」和「天下第一藥市」享譽全球。該市因發展中藥材炮製歷史悠久，造就精湛的中藥材傳統加工技術，曾以「百刀檳榔、蟬翼清夏、雲片鹿茸、鎊制犀角」被稱為「祁州四絕」，並有「草到安國

方成藥，藥到祁州始生香」的美譽。

安國市內東方藥城建於 1994 年，是一中藥材專業市場，全盛期交易藥材種類多達 2800 項，交易量 500 多噸，範圍遍及全中國、臺灣、東南亞和歐美等國家。以中藥產業為首，同時發展銷售、加工、醫療保健、研究、參觀，成為一大型中藥材專業市場。因東方藥城在中藥材交易史上具重要地位，近年更是隨著電子商務的興起，中藥材交易的發展開始電子化，間接孕育出新的交易中心：安國數位藥都。

安國數位中藥都有限公司(簡稱安國中藥都)，成立於 2013 年 9 月。被列為中國國家級重大工程，整體規劃用地 2000 畝，遠景規劃 3000 畝。第一期工程內容包括綜合中心交易大廳、專業藥材市場、大客戶獨立店、中央倉儲區、金融保險通訊服務中心等，並於 2017 年 5 月啟用。第二期工程內容將包括飲片加工區、特色藥材交易市場、藥農交易市場、大健康產業市場、會展中心、商業綜合體、戰略藥材儲備庫和倉儲物流區等。目標成為中國首次以資訊化、數位化、科技化、現代化和人文化等為核心的中藥材交易市場(圖 2-4)。



圖 2、東方藥城街道上排滿一袋袋藥材，販售至少以 1 公斤為單位



圖 3、中國發展交易電子化，就連路邊攤位都可以使用手機支付



圖4、安國數位中藥都全景圖。框紅線處為第一期工程完成的部分
圖片來源：<http://www.anguozhongyaodu.com/index.php>

三、課程內容

紅外光光譜

紅外光光譜儀

1666 年牛頓證明白光可分為一系列不同顏色的可見光，若將此一系列可見光投影到一個屏幕上，便可以得到一條從紫色到紅色的光帶。這一現象，他稱之為光譜。1800 年英國科學家威廉赫歇爾發現來自太陽的輻射也是相似的光譜構成。同時，他也發現：1.可見光區域紅色末端外有看不見的輻射區；2.這個輻射區會產生熱。而這種射線因存在可見光區域紅色末端之外，因此稱之為紅外線。20 世紀初威廉科布倫荊的研究，奠定了近代紅外光譜學基礎。他測定了 120 種有機化合物的紅外光譜，並建立了圖譜。從此，紅外吸收光譜與分子結構之間的關係才開始確認。

紅外光譜儀主要由光源、樣品室、單色器以及檢測器等部分構成。從 1970 年後，傅立葉轉換紅外光譜儀是目前最為普遍的紅外光譜儀類型。傅立葉轉換紅外光譜儀是以干涉儀取代單色發光器(稜鏡)，提高了光譜的信號/雜訊比，而產生的干涉圖可利用「傅立葉轉換」方程式轉換，以便從一連串重疊頻率中取出光譜。這個技術的優勢在於約 1 秒內可以得到所有光譜，並利用電腦來獲得並平均幾種光譜掃描。也因為傅立葉轉換紅外光譜儀具有波長精度高、分辨率高、重現性好等優點。

紅外光譜樣品製備技術

使用 IR 分析前，簡述不同檢品配製方式：

1. 固體樣品：對於固體樣品，可以使用壓片法、調糊法和薄膜法。
 - (1) 壓片法：固體樣品製備最常使用的是壓片法。壓片法是一種傳統簡便易行的紅外光譜製備方法，現在仍然是紅外光譜實驗室常用的製樣方法。但採用溴化鉀壓片法，會有兩種缺點：第一個缺點，無機化合物和溴化鉀研磨時，

尤其是施加壓力，可能發生離子交換；第二個缺點，用溴化鉀壓片法，在 3400 cm^{-1} 和 1640 cm^{-1} 左右會出現水分子的吸收峰。這是由於溴化鉀研磨時，吸附空氣中的水蒸氣造成的。即便是在研磨之前已經烘乾的溴化鉀，也會出現這種現象。而一個簡單的消除水波峰影響的辦法，就是在同樣的條件下，只用純溴化鉀，而不添加任何的其他樣品壓片，並測試其紅外光譜，將此光譜作為背景樣品的紅外光譜中扣除。

(2) 調糊法：調糊法適用於那些找不到合適的溶劑，但能粉碎的物質樣品。在瑪瑙研鉢中，將待測樣品和糊劑一起研磨，將樣品微細顆粒均勻分散在糊劑中測定光譜。最常用的糊劑有石蠟油和氟油，石蠟油研磨法可以有效的避免溴化鉀壓片法存在的兩個致命缺點：既不會發生離子交換，又不會吸附空氣中的水氣。但是，石蠟油研磨法也存在缺點，即在樣品光譜中，會出現碳氫吸收峰，而干擾樣品的真實吸收峰。

(3) 薄膜法：即把樣品當作厚度適當的透明薄膜，進行光譜測定。這種方法適用於能夠磨成膜的高分子物質，在定性分析時，用起來很方便。

2. 檢品配製方法是利用擴散反射。擴散反射是一種易觀察之現象，當光自一物質表面反射，不管從何角度，觀察到的光強度都是相同的。擴散反射的檢品配製除了細粉末被壓縮以外，其餘都和壓片法的配製方法相同。此種技術亦為同質多晶體檢測的有用技術，因為分析用檢品之配置所需的研磨及壓縮最小，而壓縮會引起同質多晶體的互換。

3. 衰減全反射技術(Attenuated total reflectance, ATR)。適合用於高濃度的檢體、少量檢體或是光線無法穿透的檢體，其優點有：操作簡易、快速及不需要使用有機溶劑或其他稀釋劑。

紅外光譜解析

紅外光譜是一種傳統的化合物分子結構分析方法，主要用來判斷分子所含的官能基的結構特徵。但上述分析方法，主要用於純物質的分析，對於混合物使用

紅外光譜法對其進行分析，遠比純物質分析困難得多。而隨著紅外光譜儀器的發展，不斷的精進其軟體和硬體的配件，加上大量的研究基礎，可以根據紅外光譜的基本理論與混合物紅外光譜指紋特徵所建立的「多級紅外光譜宏觀指紋分析法」，作為紅外光譜中對中藥食品等混合物進行更獨特分析鑑別的方法。

傳統的混合物分析研究方法是先針對混合物進行分離，再分別辨別分離後所得到的成分，但分離後的成分與原始物質具有一定差異的。此法亦無法直接反應混合物中各種成分並存時的相互作用訊息。最後，是對混合物進行分離時，一一比對所有組成的成分，需要消耗大量的時間、人力和物力。有鑑於此「不分離即分析」為更理想的混合物初步分析方法。因紅外光光譜儀有前處理簡單、不破壞樣品等優點，極為適合開發成為快速篩檢的方法。

多級紅外光譜宏觀指紋分析法

因此紅外光光譜分析法用於混合物分析具有：不會只關注於特定成分、能夠給予分子之間相互作用的訊息、適合於各種尺寸、各種形式的樣本、基本上無須分離樣品或其他前處理的步驟，是最直接、快速、不影響檢體的分析方法等優勢。但是，紅外光光譜此種未經分離的分析法，提供的資訊過於複雜，且可區別性低。為了克服紅外光光譜分析方法使用於混合物分析面臨的難題，孫素琴教授建立了一系列方法，即「多級紅外光譜紅關指紋分析法」。具體可以概括為三大方法，九項措施，簡介如下：

三級鑑別法：區分為 1.經典紅外光譜；2.二階導數光譜；3.二維相關光譜。三級鑑別是指利用光譜將相似光譜間的差異放大，使更容易鑑別區分相似混合物。而傳統紅外光譜是對混合物進行鑑別的基礎，即為一級鑑別；二階導數紅外光譜能夠放大紅外光譜上的差異，為二級鑑別；二維相關紅外光譜可以利用樣品有另一參數存在時，將傳統光譜在二維上展開，即為三級鑑別。

整體解析法：區分為 1.主體成分析；2.特定成分析；3.相對含量比較。透過官能基指認或與標準圖譜比較，可以根據混合物紅外光譜上某種成分特徵峰

對混合物的成分進行定性分析，也可以根據特徵峰相對強度的變化得知某些成分相對含量的變化。

專家識別法：區分為 1.光譜數據庫檢索；2.相似度量化評論；3.多組分定量分析。藉由光譜數據庫、模式識別和多元校正模型，透過軟體來計算分析樣品，而無須十分專業的紅外線光譜背景。

以相對含量比較為例子，對於混合物中不同的成分，可以根據其相對峰強度的變化得知其相對含量的改變。在 1747 cm^{-1} 是各奶粉中，脂肪含量的特徵峰， 1659 cm^{-1} 是蛋白質某官能基的特徵峰：(a)為全脂奶粉；(b)為低脂奶粉；(c)為脫脂奶粉。(圖 5)

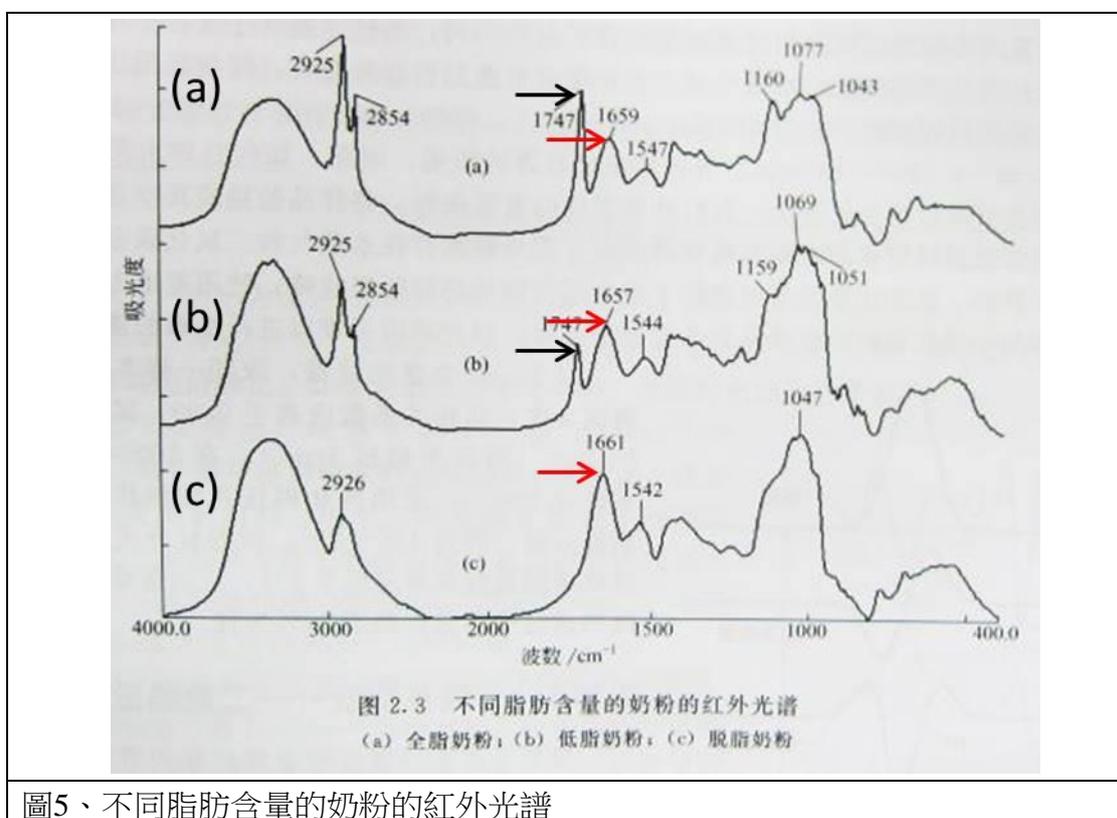
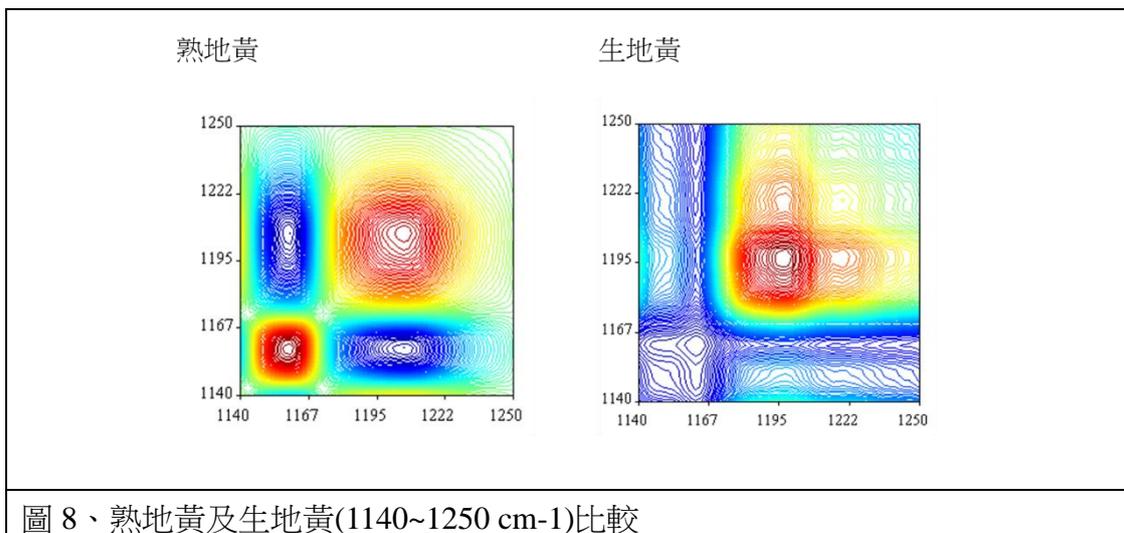
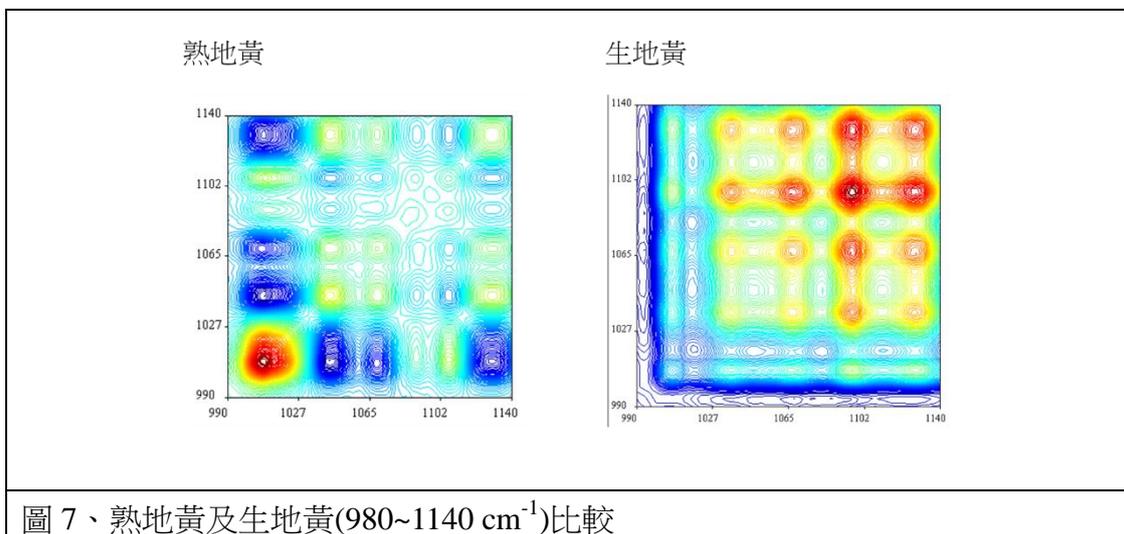
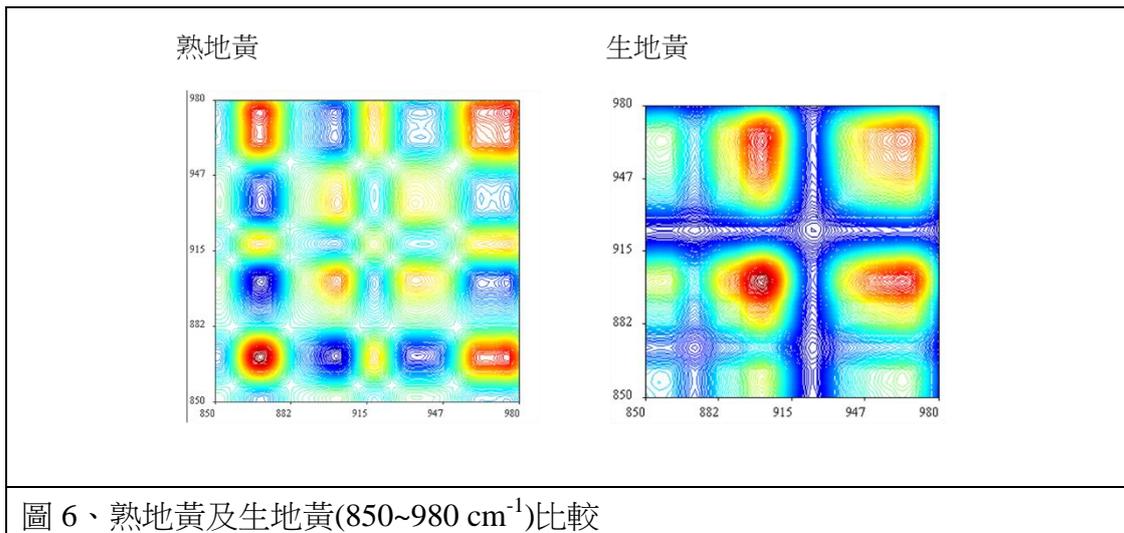


圖5、不同脂肪含量的奶粉的紅外光譜

與傳統的紅外線光譜方法比較，孫老師研究開發的二維相關光譜，是一在傳統光譜導入參數，展開二維訊息，來獲得更多樣品的訊息，並提高圖譜的分辨率，特別適合於鑑別相似度高的樣品。以 2016 年職等以生地黃、熟地黃的檢驗結果為例(圖 6-9)，因此二藥材皆為地黃，僅差異在炮製的過程，故一般的組織切片、

層析法或是 PCR 等方式較難區分其差異。



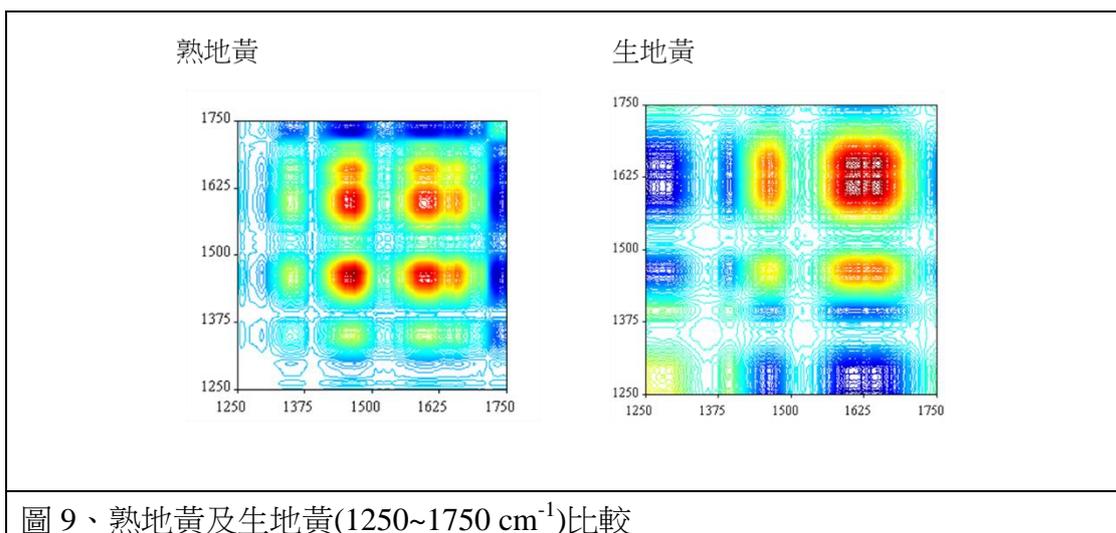


圖 9、熟地黃及生地黃(1250~1750 cm^{-1})比較

「光譜數據庫檢索」及「相似度量化評論」，是孫老師開發的「多級紅外光譜宏觀指紋分析法」中，主要使用於混合物分析的技術。光譜數據庫是紅外線光譜分析法的重要組成部分。若混合物中，某種成分的含量較高時，該混合物的紅外線光譜就會與這種純物質的紅外線光譜非常相似。故有組織並大量收集光譜資訊，以健全資料庫是紅外光光譜使用於未知物分析很重要的第一步。進一步，可以使用統計方法客觀辨別同類或相似性高的檢體之間的異同，即為「相似度量化評論」，在建立合適的模式後，透過相關係數的高低來判斷樣品間的相似性。

中藥材的紅外光譜分析與其所含成分密切相關，其中產地、栽培方式等因素均會導致成分的變化。當中藥材的組成有所變化時，其紅外光譜必然也會隨之發生相對應的變化。但由於各成分的複雜性，不同藥材在紅外光譜上的差異可能極其微弱，因此需要使用足以分辨的紅外線光圖譜解分析技術，才能將這些差異顯現出來。因此，需使用多級紅外光譜宏觀指紋分析法鑑別分析。建立中藥材紅外光譜識別模式，需收集足夠具有代表性樣品，然後透過軟體計算分析得到對這些檢體進行準確鑑別的合理模式，最終將這些模式應用到對未知檢體進行歸類判別分析中，以得到可信度高的鑑別結果。

四、紅外光光譜分析結果_ATR 法

常見的紅外光樣品分析技術可分為穿透技術(transmission techniques)、衰減總反射技術(Attenuated Total Reflectance, ATR)及擴散反射技術(Diffuse Reflectance, DRIFTS)(表 1)。根據檢品的型態與特性選擇不同的測量方法，以取得有效的紅外光譜。

表 1、常見的紅外光樣品分析技術

紅外光測定法	特性
穿透技術	<ul style="list-style-type: none">◆ 大多需進行樣品前處理◆ 可得到較好的圖譜品質◆ 可進行定性及定量分析
衰減總反射技術	<ul style="list-style-type: none">◆ 不須樣品前處理◆ 表面分析
擴散反射技術	<ul style="list-style-type: none">◆ 很少甚至不須進行樣品前處理◆ 可分析無反射的物質(不透明或弱吸收物質)◆ 可到反射及散射光譜

衰減總反射技術

樣品在測量時必須緊密貼合反射元件之表面。其基本原理是，當紅外光波以大於臨界角之入射角由低折射率物質進入高折射率物質時，光波會在兩個介質的介面上發生全反射。駐波(evanescent wave)透射進入樣品，適合進行樣品表面性質之分析。因此感測晶體愈長或晶體的厚度愈小，其反射次數相對增加，吸收訊號也相對較佳。

一般而言，在紅外光之駐波進入樣品的深度(Depth of penetration, DP)約幾個微米(μm)左右。如此小之 DP 值除可降低水氣的影響，且因 DP 值在入射角與折射率數值不變，故具有良好之再現性。

$$D_p = \frac{\lambda/n_1}{2\pi\sqrt{\sin^2\theta - (n_2/n_1)^2}}$$

λ ：光波之波長

n_1 ：折射晶體之折射率 (refractive index)(詳見表 2、ATR 晶體之規格)

n_2 ：樣品之折射率

θ ：入射角 (incident angle)

當物體受光照射時，會依其所組成官能基及化學鍵有不同振動能與旋轉能，而吸收某些特定波長的光，產生吸收強度或透光度不同的吸收峰，依波長之大小即構成一代表該化合物之特性光譜。

表 2、ATR 晶體之規格

材質	光譜範圍 (cm^{-1})	特性	折射率 (1000 cm^{-1})
ZnSe	10,000~510	<ul style="list-style-type: none"> ◆ 硬而脆 ◆ 避免酸和強鹼(適用 pH：5~9) ◆ 透射範圍較廣 ◆ 避免較硬物質造成刮擦 ◆ 清洗之溶劑：水、乙醇、丙酮 	2.4
Ge	5,000~880	<ul style="list-style-type: none"> ◆ 硬而脆 ◆ 有效光程較短，僅適測定吸收較強的物質 ◆ 可用弱酸、弱鹼，避免使用強氧化劑 ◆ 避免物質刮擦 ◆ 清洗之溶劑：水、乙醇、丙酮 	4.0
Si	8300~1500, 360~70	<ul style="list-style-type: none"> ◆ 較脆 ◆ 具良好熱阻和機械阻力 ◆ 避免使用 HF 和 HNO_3 ◆ 清洗之溶劑：水、乙醇、丙酮 	2.37
KRS-5	16,600~330	<ul style="list-style-type: none"> ◆ 具毒性 ◆ 溶於鹼性物質 ◆ 清洗之溶劑：MEK 	2.37
Diamond	30,000~30	<ul style="list-style-type: none"> ◆ 硬度高 ◆ 具有化學惰性 ◆ 清洗之溶劑：乙醇、丙酮 	2.4

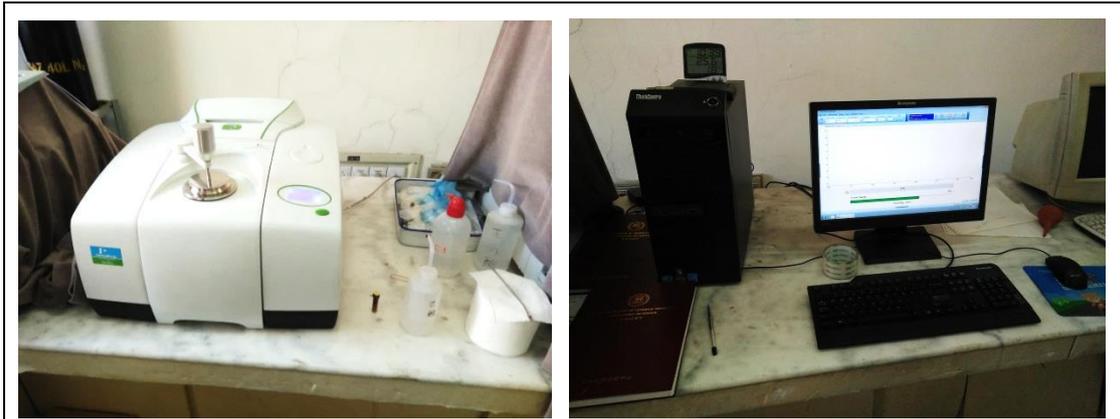


圖 10、北京清華大學分析中心之紅外光衰減總反射設備。主機上有溫、濕度計

紅外光衰弱總反射分析條件

光譜儀：PerkinElmer 紅外光譜儀搭配 ATR 附件

ATR 晶體規格：ZnSe

入射角度：45°。

掃描條件：掃描 16 次（背景掃描 32 次）。

光譜解析度：4 cm^{-1} 。

測量範圍 4000~700 cm^{-1} 。

衰減全反射壓力常數為 100。

將檢體粉末或濃稠液體直接放置於 ATR 附件樣品台上(圖 10)，進行紅外光掃描，獲得紅外光衰弱總反射光圖譜，利用 Spectrum 軟體分析其結果。

杏仁及桃仁藥材分析結果

在一件桃仁檢體內發現疑似摻混其他物質，經外觀初步判別，推測是桃仁或杏仁之檢體，因此利用紅外光衰弱總反射技術進一步鑑定是否為其中一種物質。

結果：

未知物紅外光衰弱總反射光圖譜中，在 3007 cm^{-1} 、2923 cm^{-1} 、2854 cm^{-1} 是 CH₂、CH₃ 峰，1744 cm^{-1} 是 C=O 峰，1160 cm^{-1} 是 C-O 峰，為油脂類特徵吸收峰。其中未知物與杏仁去油相比較，波峰面積明顯較少，因此將這一可能選項剔除。

另外比較 1745 cm^{-1} 與 1641 cm^{-1} 、處和 1055 cm^{-1} 與 1158 cm^{-1} 處之相對峰高，未知物與杏仁較接近。且未知物在 1641 cm^{-1} 的有一蛋白質類特徵吸收峰，在杏仁紅外光衰弱總反射光圖譜中有，桃仁紅外光衰弱總反射光圖譜則無出現此特徵波峰。經軟體分析未知物比對，結果顯示與杏仁有較高的相關性(圖 11、表 3)。

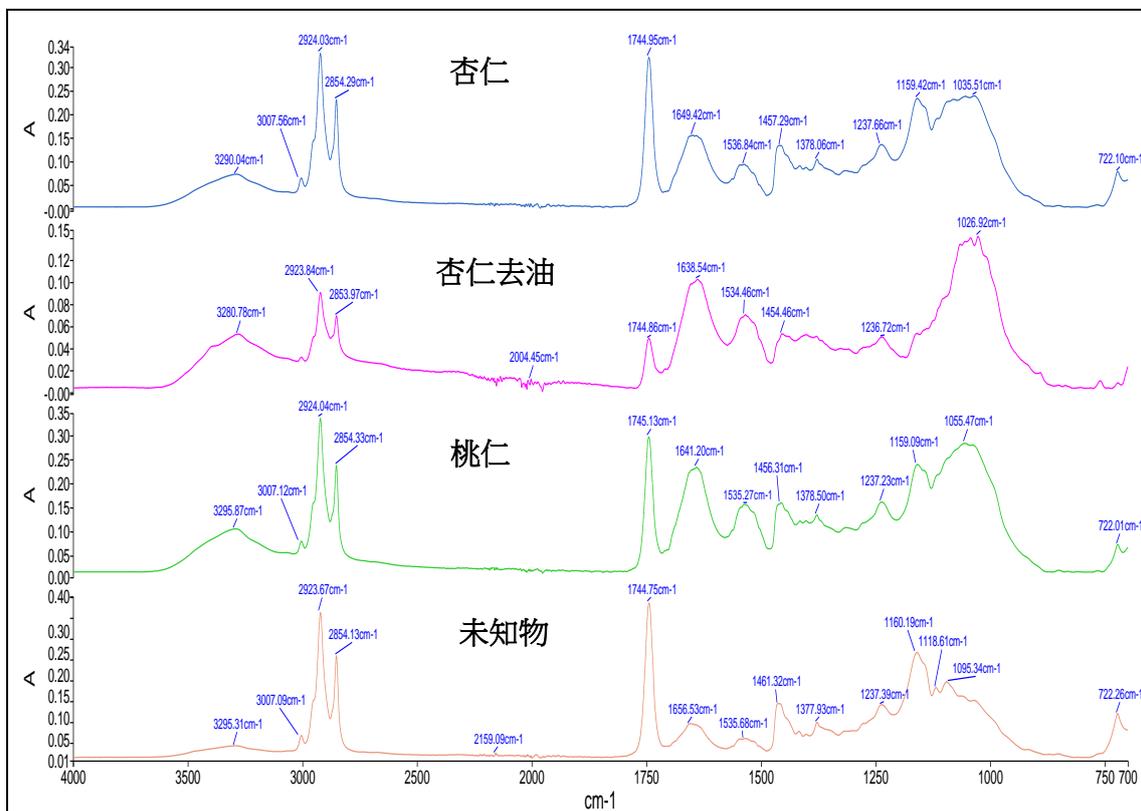


圖 11、杏仁、杏仁去油、桃仁及未知檢體之紅外光衰弱總反射光圖譜

表 3、以未知物比對杏仁、杏仁去油及桃仁，相關性 0.95 為及格之結果。

樣品名稱	相關性	通過/失敗
A1_杏仁	0.98609	通過
A2_杏仁去油	0.72835	失敗
A3_桃仁	0.95654	失敗

討論：

實驗結果未知物與杏仁有較高之相關性，但須經二階導數光譜、二維相關光譜等更進一步確認。另外，由於是以外觀初步推測該未知物可能是桃仁或杏仁，

因此尚有其他未知可能選項仍須進一步研究。

我們現場實作的桃仁紅外光衰弱總反射光圖譜與孫老師所建之桃仁標準紅外光圖譜呈現波峰不同。孫老師所建之桃仁標準紅外光圖譜，在 1711 cm^{-1} 、 1745 cm^{-1} 處應皆有波峰，是 $\text{C}=\text{O}$ 為桃仁特徵波峰，而現場實作的桃仁紅光圖譜在 1744 cm^{-1} 波峰明顯較強，而未見 1711 cm^{-1} 。由於桃仁為一油脂類含量高物質，是困難度高之檢體，因此孫老師就其經驗建議，將桃仁核及桃仁皮分批並多次取樣偵測，取其平均圖譜其結果方能準確(圖 12)。

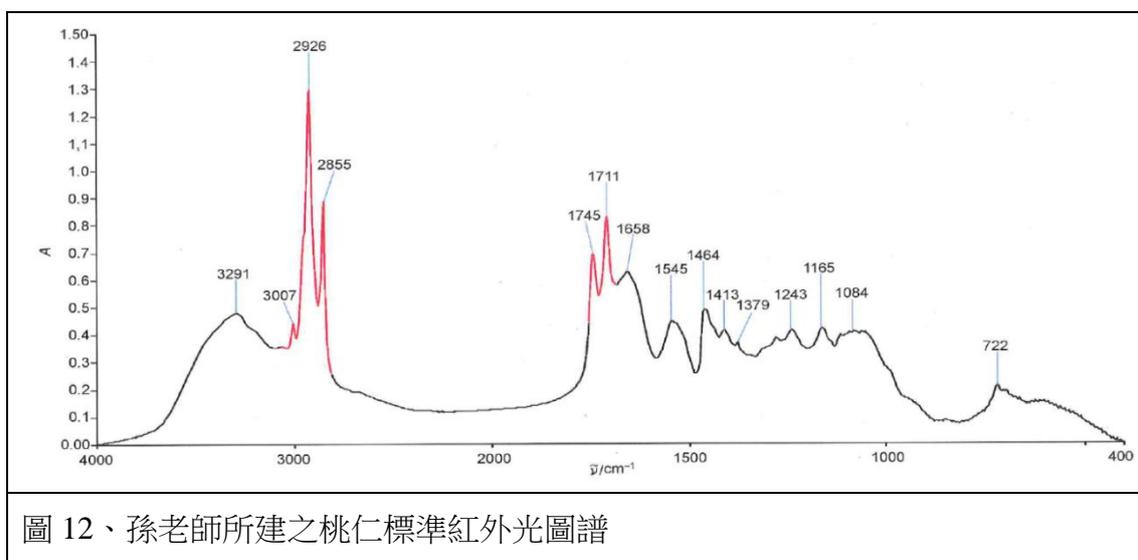


圖 12、孫老師所建之桃仁標準紅外光圖譜

肉蓯蓉藥材分析結果

肉蓯蓉具壯陽補腎、潤腸通便之功效，故有「沙漠人參」之美譽，為名貴中藥材之一。因藥材來源稀少，常有亂用或誤用之現象，因此建立準確之鑑別方法更顯為重要。30 件經 PCR 指紋圖譜鑑定區分為荒漠肉蓯蓉、管花肉蓯蓉、鹽生肉蓯蓉及草蓯蓉 4 類之檢體，利用紅外光衰弱總反射技術分析，比對其結果，期能建立快速準確之鑑別方法。

結果：

在孫老師所建之肉蓯蓉標準紅外光圖譜中(圖 13、14)，在 3291 cm^{-1} 處為 $\text{O}-\text{H}$ 伸縮震動峰， 1731 cm^{-1} 是 $\text{C}=\text{O}$ 伸縮震動峰，為羧酸類或酯類的特徵吸收峰。在 1631 cm^{-1} 是 $\text{C}=\text{O}$ 伸縮震動峰， 1398 cm^{-1} 是 $\text{C}-\text{H}$ 彎曲振動峰，而較高峰 1086

cm^{-1} 、 1053 cm^{-1} 、 1026 cm^{-1} 重疊而成的寬峰是 C-O 伸縮振動峰，此為糖苷類物質的特徵吸收波峰。比對我們現場實作之標準藥材(荒漠肉蓯蓉、管花肉蓯蓉)紅外光衰弱總反射光圖譜，結果顯示：(1)荒漠肉蓯蓉之光圖譜可明顯看見在 3260 cm^{-1} 處的 O-H 伸縮震動峰， 1720 cm^{-1} 處的 C=O 伸縮震動峰，為羧酸類或酯類的特徵吸收峰，管花肉蓯蓉在 C=O 伸縮震動峰處則較弱。(2)荒漠肉蓯蓉與管花肉蓯蓉之光圖譜可看到分別在 1619 cm^{-1} 、 1623 cm^{-1} 的 C=O 伸縮震動峰， 1397 cm^{-1} 、 1396 cm^{-1} 的 C-H 彎曲振動峰，但在 C-O 重疊而成的寬峰，皆未出現 3 個明顯的波峰。因此利用衰弱總反射技術未能建立鑑別肉蓯蓉之有效圖譜。另外，將荒漠肉蓯蓉標準藥材之紅外光衰弱總反射光圖譜比對經 PCR 指紋圖譜鑑定為荒漠肉蓯蓉的 20 件檢體，軟體分析結果有 6 件檢體(CH01、CH03、CH05、CH06、CH15、CH23)相關性低於 0.9(表 4)。

討論：

(1)未能以衰弱總反射技術建立鑑別肉蓯蓉之有效圖譜，因此必須再進一步將檢體壓片以紅外線穿透技術進行分析。

(2)荒漠肉蓯蓉標準藥材之紅外光衰弱總反射光圖譜比對經 DNA 指紋圖譜鑑定為荒漠肉蓯蓉的 20 件檢體，結果有 6 件檢體(CH01、CH03、CH05、CH06、CH15、CH23)相關性低於 0.9，顯示出兩種分析方法結果不盡相同。推論可能原因為：肉蓯蓉不同部位成分組成、及含量皆不同，如以根部之指標成分毛蕊花糖苷和松果菊苷含量最高。另外，孫老師認為中藥材之生長年限也影響成分組成及含量中藥因素之一，須達一定生長年限方能入藥，但在藥典內並無這方面規定，可自「神農本草經」或「本草綱目」等書籍找尋相關資訊。建議往後研究可將植物部位與生長年限皆納入考量。

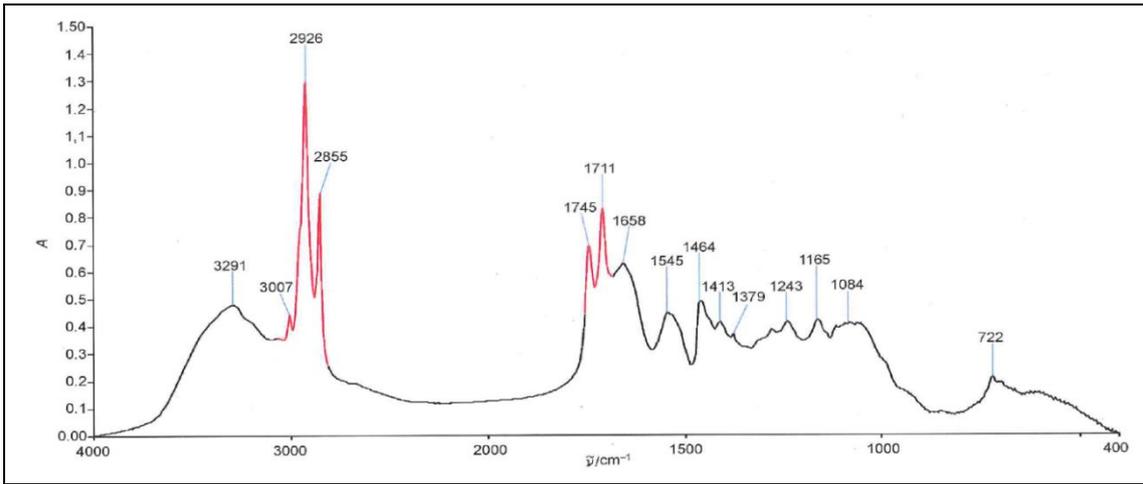


圖 13、孫老師所建之肉蓯蓉標準紅外光圖譜

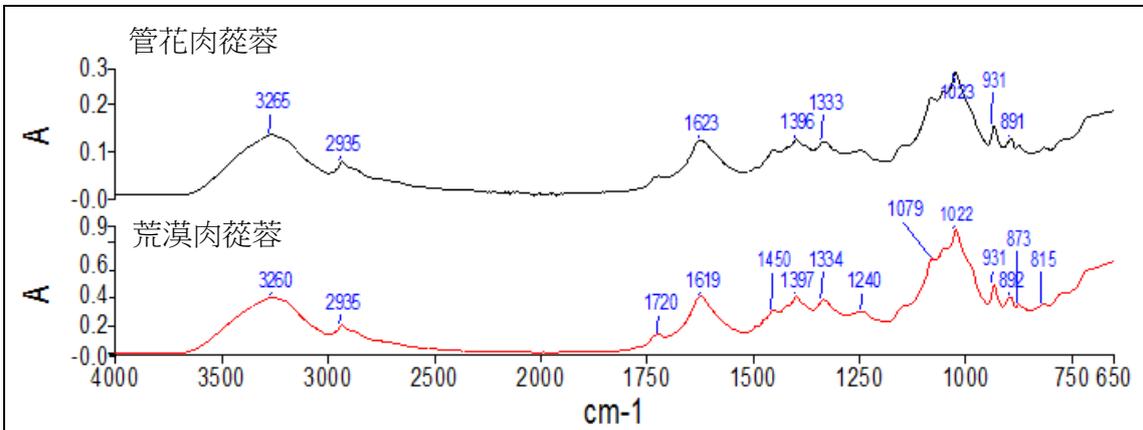


圖 14、管花肉蓯蓉、荒漠肉蓯蓉標準藥材現場實之作紅外光衰弱總反射光圖譜

表 4、以荒漠肉蓯蓉標準藥材(CD01)比對經 DNA 指紋圖譜鑑定的荒漠肉蓯蓉的 20 件檢體，相關性 0.9 為及格之結果。

樣品名稱	相關性	通過/失敗
CD01(標準藥材)	1.00000	通過
CD02(標準藥材)	0.97350	通過
CH01	0.75088	失敗
CH02	0.90828	通過
CH03	0.81075	失敗
CH04	0.91641	通過
CH05	0.75020	失敗
CH06	0.89599	失敗
CH07	0.92456	通過
CH08	0.97800	通過
CH09	0.93131	通過
CH10	0.94732	通過
CH11	0.93545	通過
CH15	0.48248	失敗
CH19	0.92114	通過
CH21	0.94872	通過
CH23	0.58331	失敗
CH25	0.95305	通過
CH26	0.93228	通過
CH28	0.97806	通過
CH29	0.93327	通過
CH30	0.91929	通過

蜂蜜分析結果

行前得知孫老師有做產地鑑別這方面的研究，因此，帶了 2 批蜂蜜分別取自高雄(hs85、hs87、hs94、hs96、hs97)與台中(hn14、hn17、hn23、hn101、hn105)各 5 件，利用紅外光衰弱總反射技術分析，比對這 2 批蜂蜜的不同，期能建立快

速準確之蜂蜜產地鑑別的方法。

結果：

紅外光衰弱總反射技術分析蜂蜜的光圖譜，以肉眼觀察未能找出差異處(圖 15、16)，但經軟體比對分析，當以台中地區蜂蜜檢體之 hn14 為標準，以 0.992 為及格，其中 hn23、hn101、hn1053 共 3 件檢體通過，台中地區之蜂蜜檢體僅 1 件(hn17)失敗，高雄地區之蜂蜜檢體皆失敗，顯示多與台中地區之蜂蜜檢體相關性較高。而當以高雄地區蜂蜜檢體之 hs85 為標準，以 0.992 為及格，其中 hs97、hs96、hs87 共 3 件檢體通過，高雄地區之蜂蜜檢體僅 1 件(hs87)失敗，台中地區之蜂蜜檢體僅 1 件(hn17)通過，顯示多與高雄地區之蜂蜜檢體相關性較高(表 5、6)。

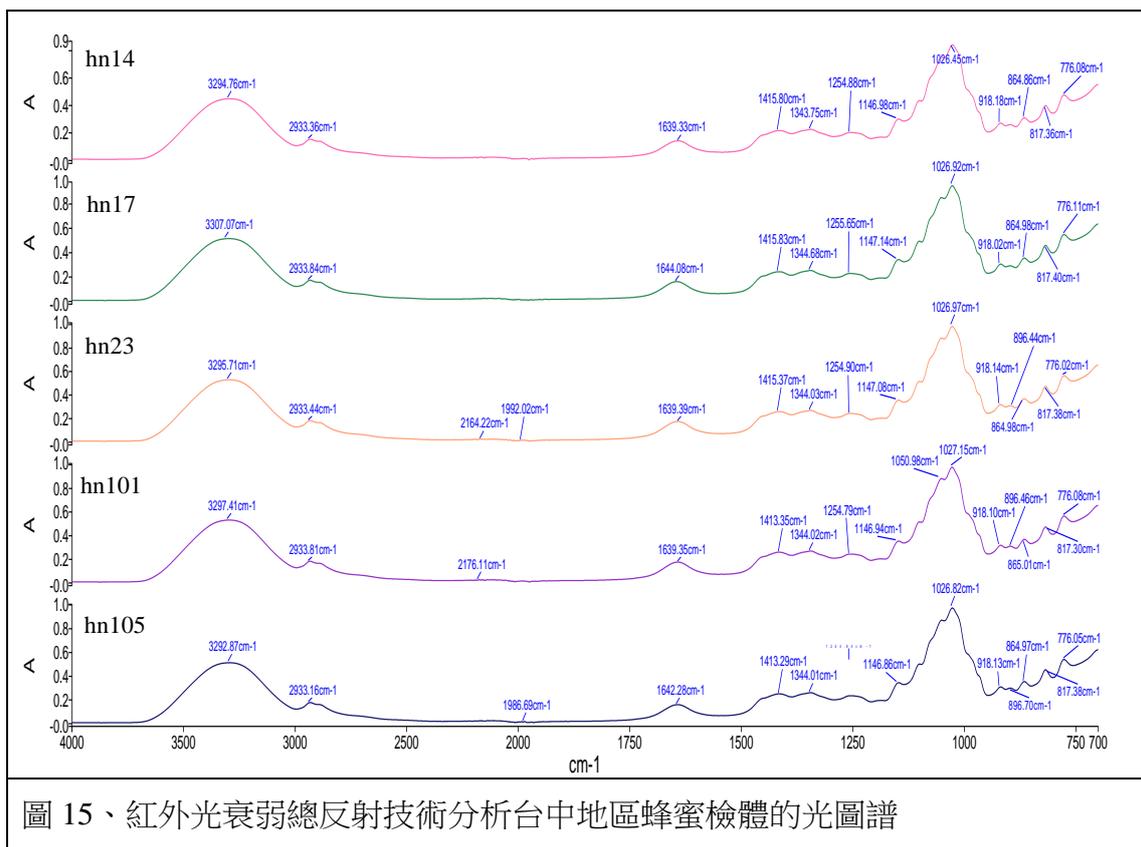


圖 15、紅外光衰弱總反射技術分析台中地區蜂蜜檢體的光圖譜

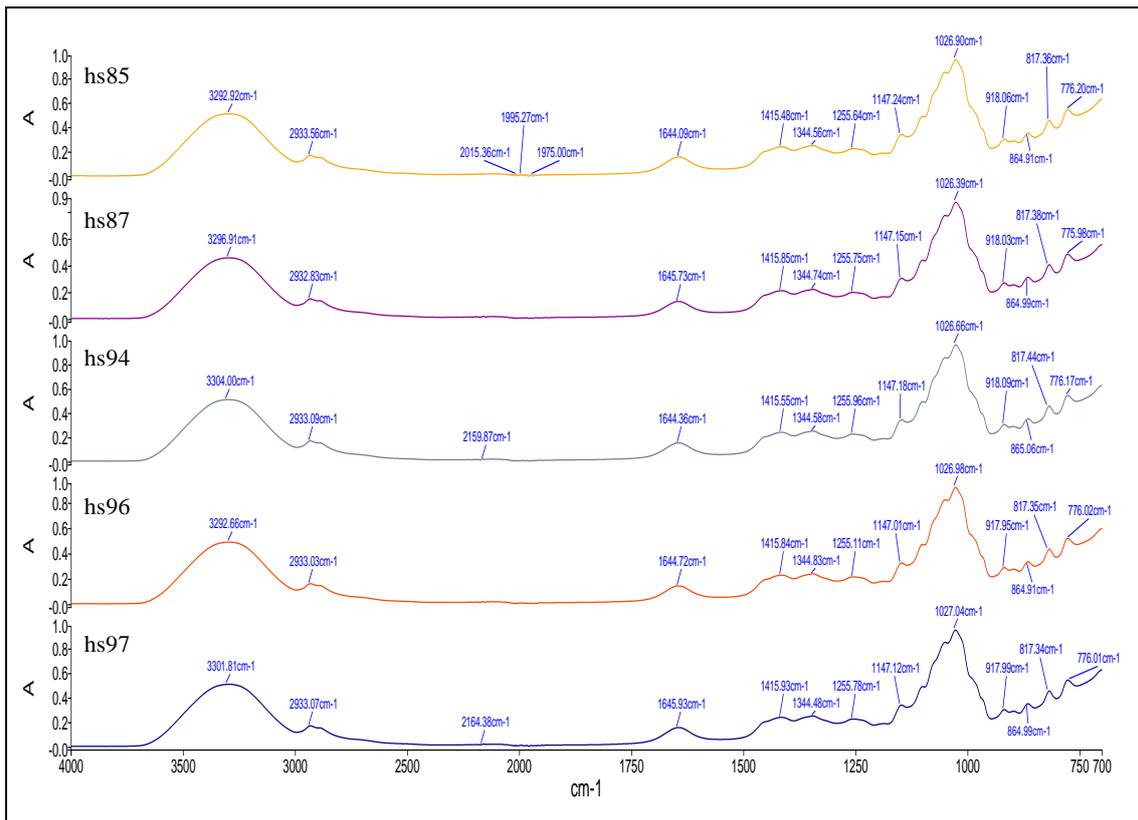


圖 16、紅外光衰弱總反射技術分析高雄地區蜂蜜檢體的光圖譜

表 5、分別以台中(hn14)蜂蜜檢體為標準比對整批蜂蜜檢體，相關性 0.92 為及格之結果。

樣品名稱	相關性	通過/失敗
hs97	0.99150	失敗
hs96	0.99006	失敗
hs94	0.99114	失敗
hs87	0.99166	失敗
hs85	0.98658	失敗
hn14(比對標準)	1	通過
hn17	0.99042	失敗
hn23	0.99518	通過
hn101	0.99399	通過
hn105	0.99544	通過

表 6、分別以高雄(hs85)蜂蜜檢體為標準比對整批蜂蜜檢體，相關性 0.92 為及格之結果。

樣品名稱	相關性	通過/失敗
hs97	0.99432	通過
hs96	0.99318	通過
hs94	0.99395	通過
hs87	0.99102	失敗
hs85(比對標準)	1	通過
hn14	0.98658	失敗
hn17	0.99233	通過
hn23	0.98782	失敗
hn101	0.98806	失敗
hn105	0.99021	失敗

討論：

雖實驗結果兩批不同地區之蜂蜜看似有鑑別區之趨勢，但經孫老師分享產地鑑別研究方法，是將兩批蜂蜜建立一個聚類模型，當兩兩集合之間無重疊或僅少量重疊，有較佳鑑別能力，而隨著檢體量增加，聚類效果會更明顯，因此更多的檢體數量能增加其鑑別之可信度，建議數量為至少 300 個。

五、紅外光光譜分析結果_壓片法

中藥材及食品均是組成分複雜的混合物，針對其質與量的管控方法一直是現今相關科學領域的研究重點，傳統上是針對所分離出來的特定成分進行監控，以達到品質管控之目的，然而，僅對個別的指標成分及其含量進行分析，事實上無法真正反應中藥材的實際組成的樣貌，換句話說可能無法掌握其實際相應的功效。

由於中藥材所含活性成分龐雜，要一一將其所有成分及其藥理作用解析出來，在時間及技術上有相當難度，此外，中藥材所含功效還會根據產地、基原、栽培方式及炮製方法的不同而產生質與量的變化，因此，僅僅分析個別成分很難展現

中藥材之整體協同作用的品質。由於紅外光光譜檢測，無須特定前處理，且可得到藥材內所含全部成分的訊息。因此，以紅外光光譜檢測之分析方法為基礎，可對某些特定的成分進行定性和定量，進一步更可透過化學分析模式識別族群差異。由於中藥成分複雜，不同藥材在紅外光譜上的差異可能很小，因此須要搭配不同的圖譜解析方式，方能辨識出細微的差異。孫老師在紅外光譜研究多年經驗提出多級紅外光譜宏觀指紋分析法的概念，亦即三大方法九個措施：整體解析法、三級鑑別法、專家識別法。當樣本量少時，可用紅外光光譜三級鑑別法，對不同藥材進行解析；當樣本數量多時，可以使用統計學分析方法，如模式鑑別。

肉蓯蓉藥材分析結果

本段落係採 KBr 壓片技術分析肉蓯蓉等 4 類中藥材檢體及桃仁與杏仁等共 4 件檢體，透過圖譜解析以及二維相關光譜之軟體來進行檢體之分析。感謝研檢組六科同仁協助準備兩類樣品供出國技術交流之用以及出國行前之演練，肉蓯蓉檢體 4 種類，包含荒漠肉蓯蓉、管花蓯蓉、鹽生肉蓯蓉以及草蓯蓉等，共計 32 件檢體，其中，荒漠肉蓯蓉有 20 件，管花肉蓯蓉有 6 件，其餘各有 2 件，相關資訊詳見表 7。桃仁、杏仁、杏仁散與疑似山桃仁檢體各 1 件，如表 8。

肉蓯蓉為產於沙漠的寄生植物，是補腎壯陽和潤腸通便的常用補益名貴中藥。自古以來常有代用品，除藥典收載荒漠肉蓯蓉與管花肉蓯蓉流通於民間外，尚有鹽生肉蓯蓉，及古書上亦曾記載用作肉蓯蓉之代用品的草蓯蓉，因此，極具研究價值。

檢體名稱	荒漠肉蓯蓉	管花肉蓯蓉	鹽生肉蓯蓉	草蓯蓉
品種	列當科	列當科	列當科	列當科
寄主植物	梭梭	檉柳屬植物	鹽爪爪	樺本科赤楊屬 Alnus植物
產地	內蒙古西部和 新疆北部	新疆天山以南	內蒙古、甘肅、 新疆及鹽鹼較重 的地方	吉林、黑龍江
使用部位	乾燥肉質莖	乾燥肉質莖	乾燥肉質莖	曬乾全草
功效	補腎陽	補腎陽	補腎陽	補腎陽
檢體編號	CH01-11、 CH15、CH19、 CH20-21、 CH25-26、 CH28-30	CH18、CH22、 CH23、CH27、 CH32、CH33	CH24、CH34	BR03、BR04

表 7、樣品簡介

肉蓯蓉所含苷類成分包含松果菊苷、毛蕊花糖苷、肉蓯蓉苷 A、B、C、H、類葉升麻苷 (acteoside)、鵝掌楸苷 (lirodendrin)、甜菜碱 (betaine)、 β -谷甾醇 (β -sitosterol)、甘露醇 (mannitol)、胺基酸與多醣類等多種成分。肉蓯蓉所含苷類成分被認為是主要活性成分，我國藥典係以松果菊苷、毛蕊花糖苷為肉蓯蓉指標成分。圖 17 所示為管花肉蓯蓉及荒漠肉蓯蓉等兩個標準中藥材與松果菊苷、毛蕊花糖苷的紅外光圖譜，四個紅外光圖譜整體而言具有相似趨勢，於 1040 cm^{-1} 及 1273 cm^{-1} 有相似趨勢，於 $1400\sim 1800\text{ cm}^{-1}$ 則為其相異之處。推測原因可能所取得標準藥材磨粉已久，及於磨粉過程造成的成分損失，造成標準藥材裡的活性成分相對於其他成分較低。比較管花肉蓯蓉與松果菊苷、毛蕊花糖苷之相應位置重疊處，推測管花肉蓯蓉所含松果菊苷、毛蕊花糖苷的含量不高。

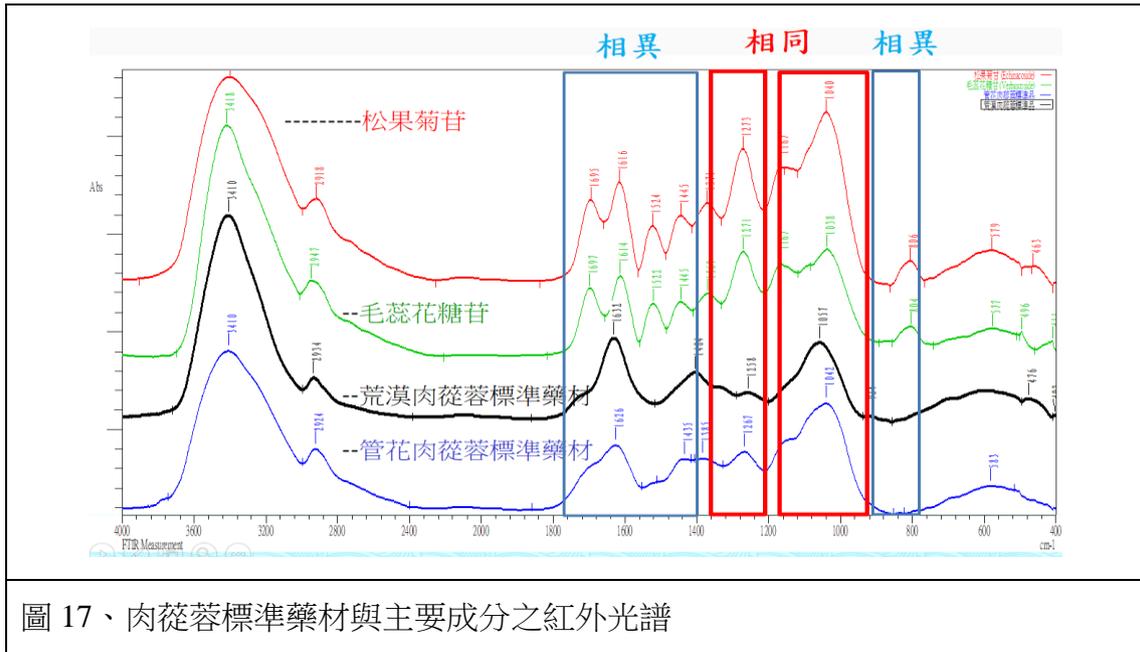


圖 17、肉蓯蓉標準藥材與主要成分之紅外光譜

圖 18 所示為管花肉蓯蓉、荒漠肉蓯蓉、鹽生肉蓯蓉及草蓯蓉等四個檢體與松果菊苷、毛蕊花糖苷的紅外光圖譜。四類檢體之紅外光圖譜趨勢相似但不完全相同，且與松果菊苷、毛蕊花糖苷的圖譜趨勢有相異之處。此外，鹽生肉蓯蓉於 $1600\text{ cm}^{-1}\sim 1800\text{ cm}^{-1}$ 有明顯相異之處。

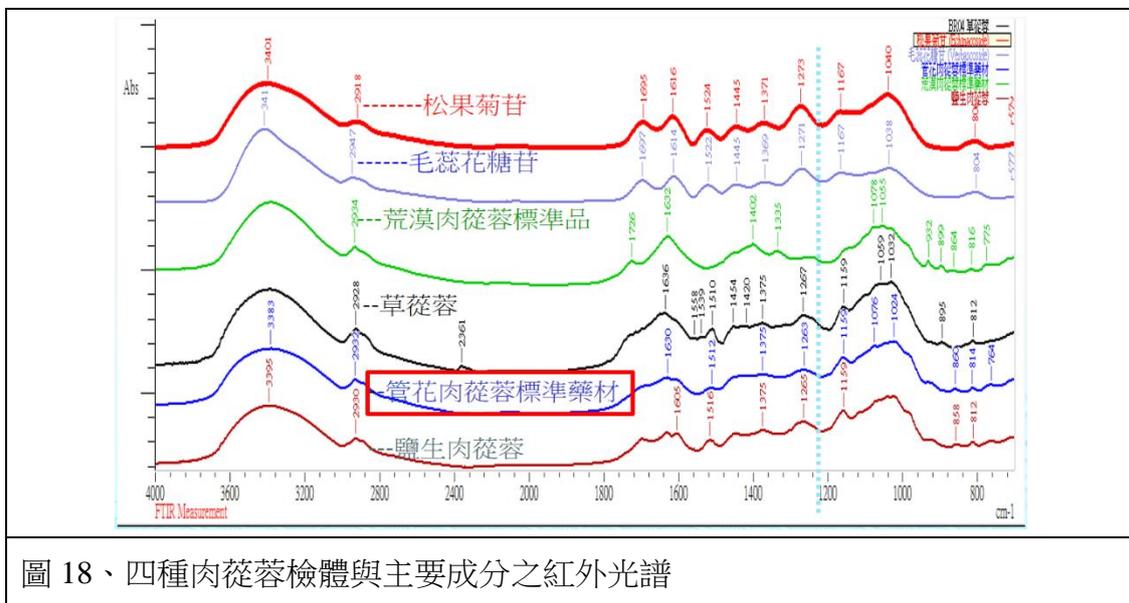


圖 18、四種肉蓯蓉檢體與主要成分之紅外光譜

圖 18 之圖譜趨勢看起來很相似，然而，於細微處仍有不少相異點，針對圖譜進行整體解析並不容易。由於二維相關光譜適用於紅外光圖譜高度相似的樣本，

因此，接下來將運用二維相關光譜進行分析比較不同藥材間的異同。有別於傳統光譜分析方法，首先引入外界擾動如溫度變化，施加於樣品的微擾會改變分子間或分子內的相互作用，進而改變樣品的紅外光譜吸收光譜。將所獲得的傳統光譜在第二維上展開，對一系列(溫度 50~120 度)的動態光譜進行相關分析(圖 19)。

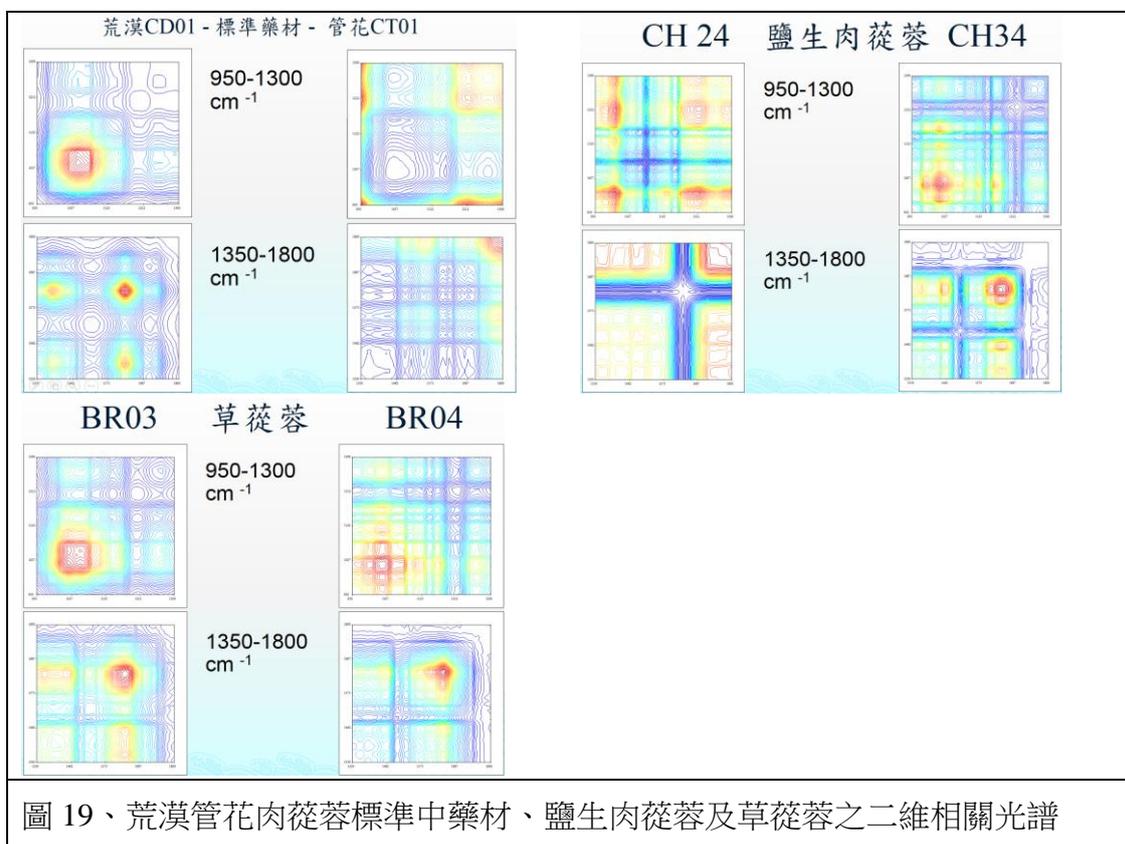


圖 19、荒漠管花肉蓯蓉標準中藥材、鹽生肉蓯蓉及草蓯蓉之二維相關光譜

圖 20 中，除 CH23 屬荒漠肉蓯蓉外，其餘均經 PCR 確認為管花肉蓯蓉。其中有 4 件管花肉蓯蓉檢體:CH18、CH20、CH22、CH27 的紅外光一級圖譜顯示具相近趨勢。另 2 件檢體：CH32 及 CH33 之紅外光圖譜整體趨勢極相近，與前述 4 件檢體之紅外光圖譜趨勢，有明顯的不同。

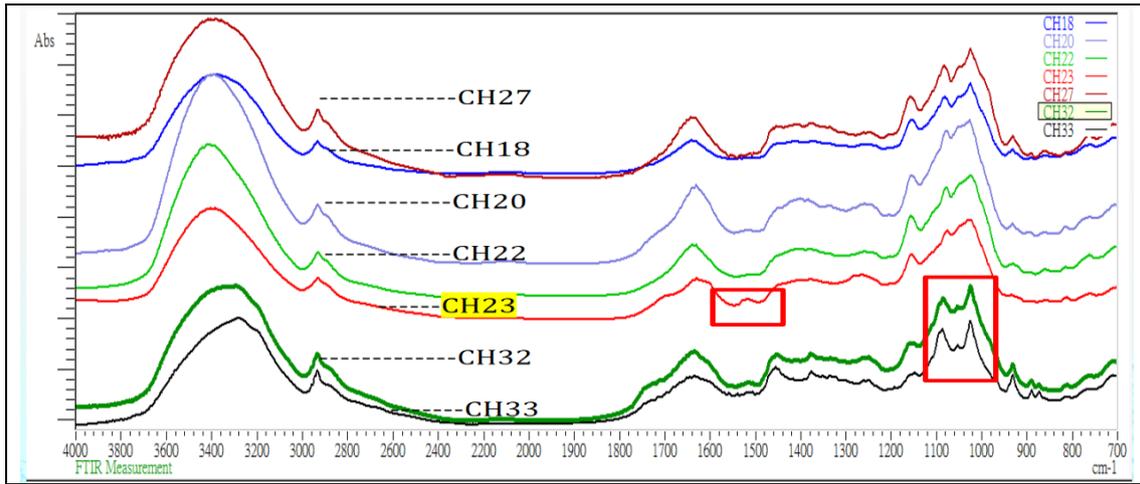


圖 20、管花肉蓯蓉檢體之紅外光圖譜

圖 21 係以孫老師研究室提供的管花肉蓯蓉之標準圖譜與 CH32、CH33 進行比對。可於 1026 cm^{-1} 、 1053 cm^{-1} 及 1086 cm^{-1} 的特徵波峰發現三者有相似之處。

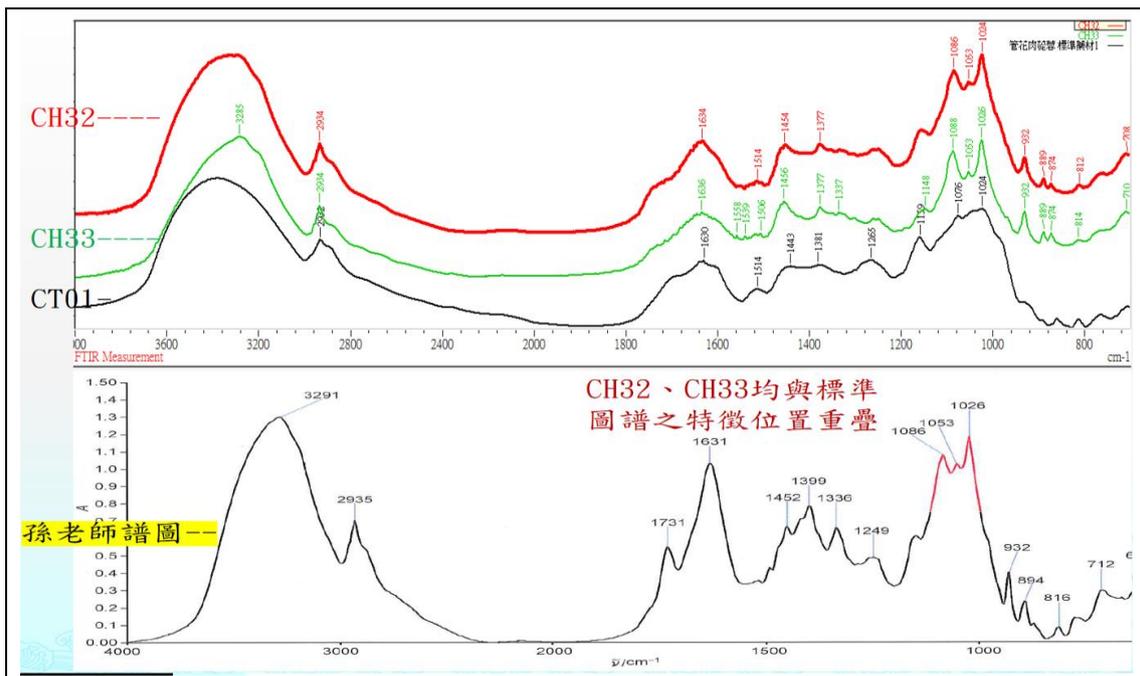


圖 21、管花肉蓯蓉檢體與管花肉蓯蓉標準圖譜之比較

二維相關光譜適用於圖譜高度相似的樣本，圖 22、23 顯示透過比較二維相關紅外圖譜，可明顯發現異同。

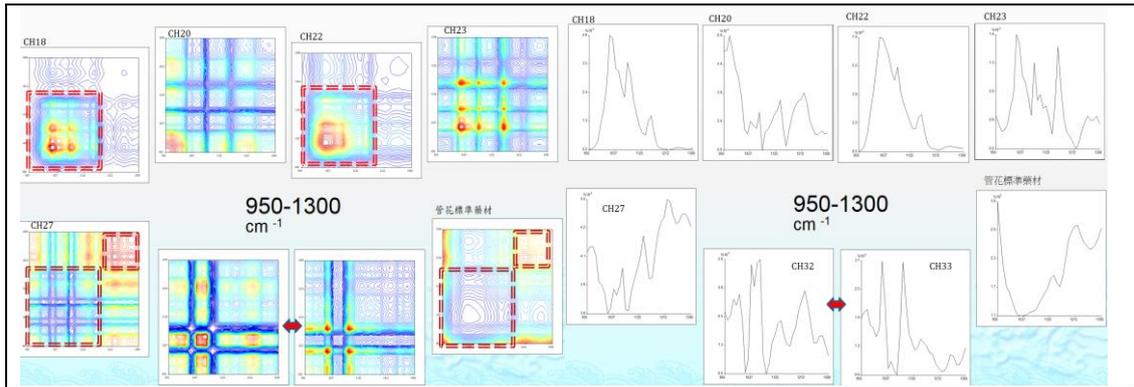


圖 22、管花肉蓯蓉之二維相關光譜與自動峰

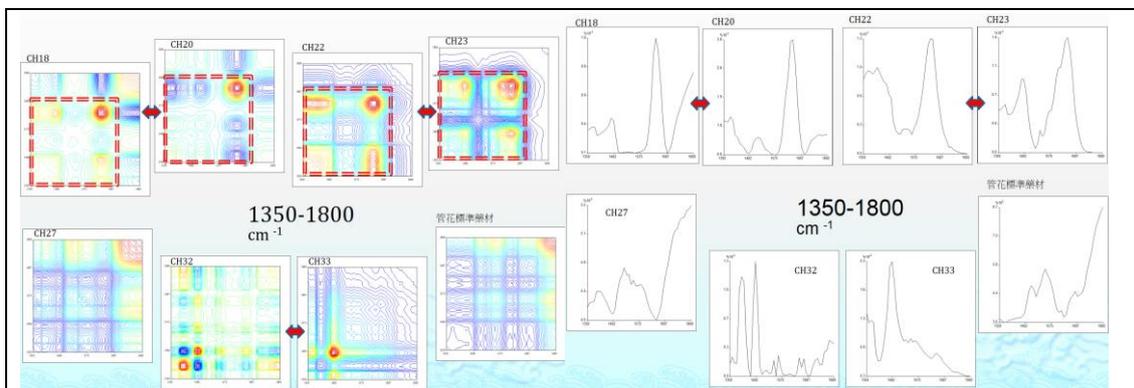


圖 23、管花肉蓯蓉之二維相關光譜與自動峰

比較二維相關紅外光圖譜之自動峰的強度差異，可以看出藥材出峰位置對應成分的熱敏感差異，顯示出藥材之間的組成差異。由於使用二維相關紅外光圖譜之檢測及圖譜解析技術所需花費的時間較長，建議使用於少量藥材間的區分及鑑別之解析。

管花肉蓯蓉			荒漠肉蓯蓉		
Correlation			Correlation		
1	1.0000	CI01	1	1.0000	CD01
2	0.9257	CH34	2	0.9250	CH04
3	0.8430	CH23	3	0.9216	CH08
4	0.8240	BR03	4	0.9190	CH11
5	0.7950	CH20	5	0.9054	CH06
6	0.7918	CH22	6	0.9013	CH10
7	0.7571	CH27	7	0.8812	CH19
8	0.7319	CH05	8	0.8716	CH03
9	0.7247	CH03	9	0.8689	CH21
10	0.7133	CH18	10	0.8664	CH25
11	0.7124	BR04	11	0.8640	CH09
12	0.6884	CH32	12	0.8609	CH02
13	0.6803	CH11	13	0.8385	CH29
14	0.6800	CH04	14	0.8361	CH20
15	0.6661	CH29	15	0.8330	CH07
16	0.6614	*Echinacoside 松果菊甘	16	0.8145	CH05
17	0.6485	CD01	17	0.8134	CH28
18	0.6485	CH01	18	0.7915	CH24
19	0.6404	CH06	19	0.7402	CH30
20	0.6271	CH02	20	0.7397	CH01
21	0.6087	CH24	21	0.7346	CH26
22	0.5822	*Verbascoside 毛蕊花糖甘	22	0.7262	CH22
23	0.5692	CH10	23	0.6989	CH27
24	0.5675	CH19	24	0.6877	CH23
25	0.5598	CH08	25	0.6832	CH18
26	0.5510	CH07	26	0.6823	BR03
27	0.5286	CH21	27	0.6635	CH32
28	0.5100	CH25	28	0.6485	CT01
29	0.5033	CH09	29	0.5954	CH15
30	0.4817	CH33	30	0.5641	BR04
31	0.4704	CH28	31	0.5160	CH34
32	0.3932	CH15	32	0.5042	CH33
33	0.3863	CH26	33	0.3449	*Echinacoside 松果菊甘
34	0.3583	CH30	34	0.2376	*Verbascoside 毛蕊花糖甘

比對雖相似
均低於0.95

圖 24、管花肉蓯蓉與荒漠肉蓯蓉之相似度分析

樣本之紅外光圖譜比對看起來雖然有相似趨勢卻不盡相同，接下來使用軟體計算樣品與標準中藥材間的相似度。將 32 件肉蓯蓉檢體分別與管花肉蓯蓉或荒漠肉蓯蓉標準藥材進行兩兩比對，圖 24 顯示 CH34 與管花肉蓯蓉之相似度 0.9257，其餘所得相似度均低於 0.9；CH04、CH08、CH6、CH10、CH11 與荒漠肉蓯蓉之相似度均大於 0.9013，其餘所得相似度均低於 0.9。上述計算主要是以單一標準藥材的紅外光圖譜與各樣品進行兩兩比較。除了標準樣品本身也具有多樣性外，標準樣品存放的時效性及保存方式也可能影響紅外光圖譜的表現，此外，由於沒有平均概念，這樣的比較所含代表性不足。理想的方式仍應朝向收集更多具代表性的真實檢體及新鮮的標準藥材，進行交叉檢測確認身分與歸類，再透過統計軟體進行化學模識鑑別的工作，才能有效的就富含多元成分的中藥材之共同特徵與相異特徵找出分類規則。

進行肉蓯蓉分析過程，實驗室溼度高(55~74%)，無法達到 40% 以下之要求，濕度造成圖譜雜訊過多，影響圖譜判讀。而肉蓯蓉檢體：藥材粉末性狀各有差異，

有些含水分高，檢體本身的濕度直接影響圖譜品質。此外，KBr 為鹽類粉末，易吸潮，對於環境中的水分及其敏感。壓片失敗率除了來自環境濕度(55~74%)外，尚有來自 CO₂ 之吸收所產生的雜訊，干擾圖譜判別。與孫老師討論，進行解析圖譜過程，本次事前於組內檢測的圖譜，部分波段受到雜訊干擾，造成圖譜的辨識度不高，或是同一檢體有相異的圖譜狀況，孫老師分享經驗，平均每一個檢體建議須有 3~5 次的分析，以找出重線性高的圖譜。



圖 25、配置有紅外燈之打錠區

研磨、混合與壓片過程，應於紅外燈的照射範圍內快速進行，減少水氣的吸附(圖 25)。使用溴化鉀粉末須長期保存於 40 °C 烘箱中，或於使用前，應經 120 °C 烘乾，置於乾燥箱備用。樣品取樣量與 KBr 比例一般是 1:100，樣品如為中藥材等混合物，則須適量增加。KBr 與樣本之研磨力度應相同，務使兩者的顆粒度不致差異太大，可免於來自顆粒大小不均形成的光散射，進而紅外光圖譜的基線傾斜。此外，應避免過度研磨，過度研磨易造成吸附過多水氣。而針對富含油脂之樣本，由於油脂滑潤，與 KBr 不易研磨充分，可反覆將壓好 KBr 片子重新放入研鉢進行反覆研磨，使 KBr 與樣品能充分混合，直到紅外光圖譜呈現良好的品質。

杏仁及桃仁藥材分析結果

以植物種子入藥的中藥材或食物：杏仁及桃仁，大都存有較多的油脂，使其

在 IR 上出現明顯的油脂特徵峰，油脂的組成為長鏈脂肪酸脂，主要吸收峰特徵是來自脂羰基(C=O)與亞甲基(C-H)的伸縮振動，此外，植物油脂主要是多元不飽和脂肪酸，故含有較多 C=C 雙鍵之伸縮振動，以及明顯的烯烴 C-H 伸縮振動等吸收峰，根據孫老師的經驗，桃仁的主要特徵峰是 1663 cm^{-1} 。

編號	No.1	No.2	No.3	No.4
檢體名稱	杏仁	杏仁散(去油脂)	桃仁	疑似山桃仁
品種	薔薇科	薔薇科	薔薇科	
使用部位	成熟種子		去皮種子	
炮製	曬乾生用		曬乾生用或炒用	
功效	止咳平喘		活血祛瘀	

表 8、樣品簡介

圖 26 中，波數 1744-1746 cm^{-1} 為脂羰基以及 2925、2984 為亞甲基伸縮振動峰，兩者均代表油脂峰，波數 722 代表含有碳數大於 4 的長碳鏈。比較杏仁與杏仁散之紅外光圖譜，去油脂杏仁散之波數 1746 cm^{-1} 明顯下降。

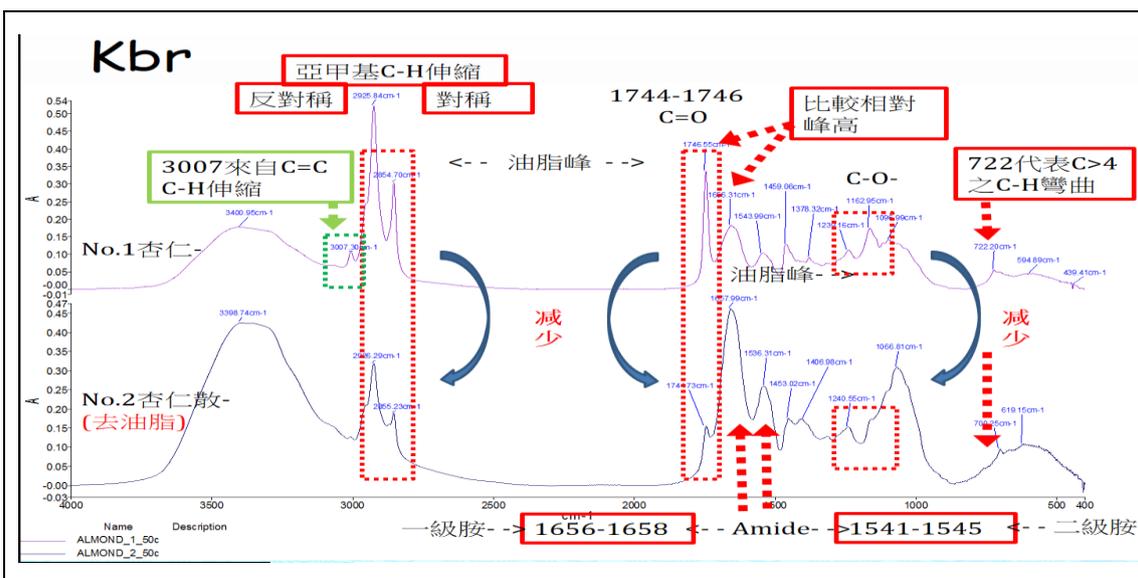


圖 26、杏仁與杏仁散之紅外光圖譜

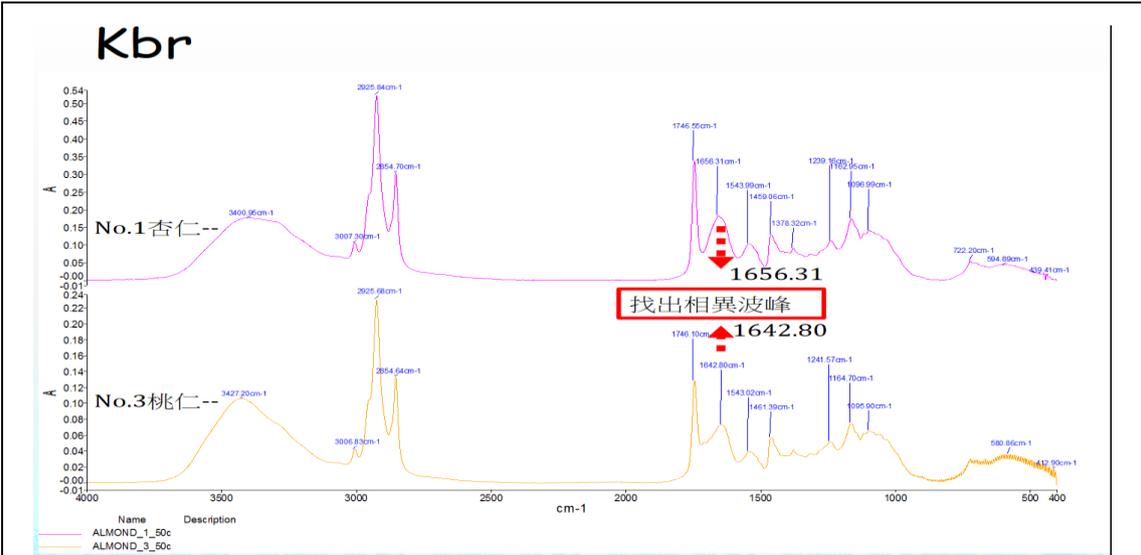


圖 27、杏仁與杏仁散之紅外光圖譜

杏仁與桃仁是富含油脂的植物種子，於紅外光譜中可清楚看到兩者均含有豐富的油脂峰，圖 27 顯示杏仁與桃仁之紅外光圖譜，兩者的主要幾個波峰重疊性高，整體趨勢非常相似，然而，仍有相異之處。桃仁的紅外光譜中，於 1642 cm^{-1} 處有明顯吸收峰，而杏仁的紅外光譜，於 1656 cm^{-1} 處有明顯吸收峰。在紅外光譜上，可以很清楚區分杏仁與桃仁。

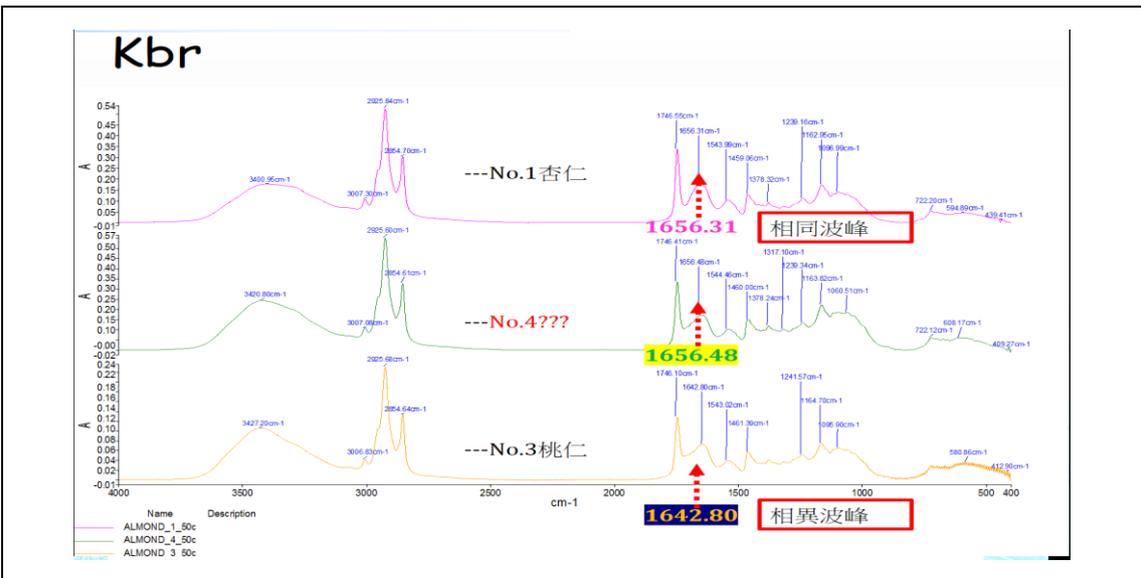


圖 28、杏仁、桃仁與疑似山桃仁檢體之紅外光圖譜

圖 28 係加入疑似山桃仁檢體進行紅外光圖譜的比對，可以清楚區分疑似山桃仁檢體與杏仁在 1656 cm^{-1} 處均有明顯波峰，疑似山桃仁檢體與杏仁非常相似。

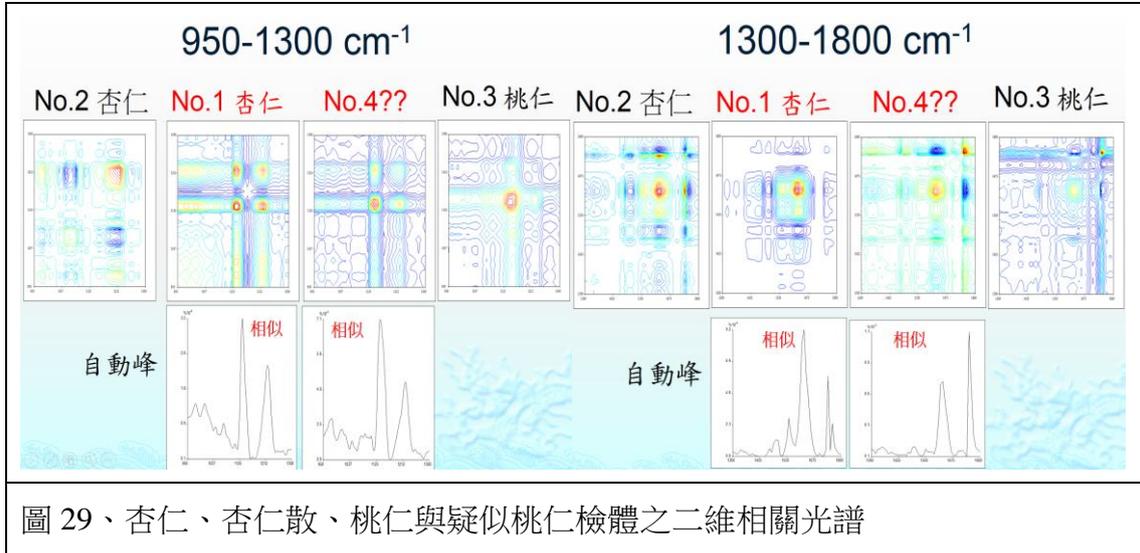


圖 29、杏仁、杏仁散、桃仁與疑似桃仁檢體之二維相關光譜

圖 29 所示為杏仁等 4 件檢體之二維相關紅外光譜，杏仁在 1141 cm^{-1} 、 1219 cm^{-1} 、 1629 cm^{-1} 、 1741 cm^{-1} 附近有 3 個強度相近及 1 個強度較弱的自動峰。桃仁在 1140 cm^{-1} 、 1221 cm^{-1} 、 1627 cm^{-1} 、 1749 cm^{-1} 附近分別有 3 個強度相近及 1 個強度較弱之自動峰。疑似山桃仁檢體的自動峰在 1141 cm^{-1} 、 1219 cm^{-1} 、 1628 cm^{-1} 、 1749 cm^{-1} 附近，相比較下，疑似山桃仁檢體較符合杏仁檢體的光譜特徵。

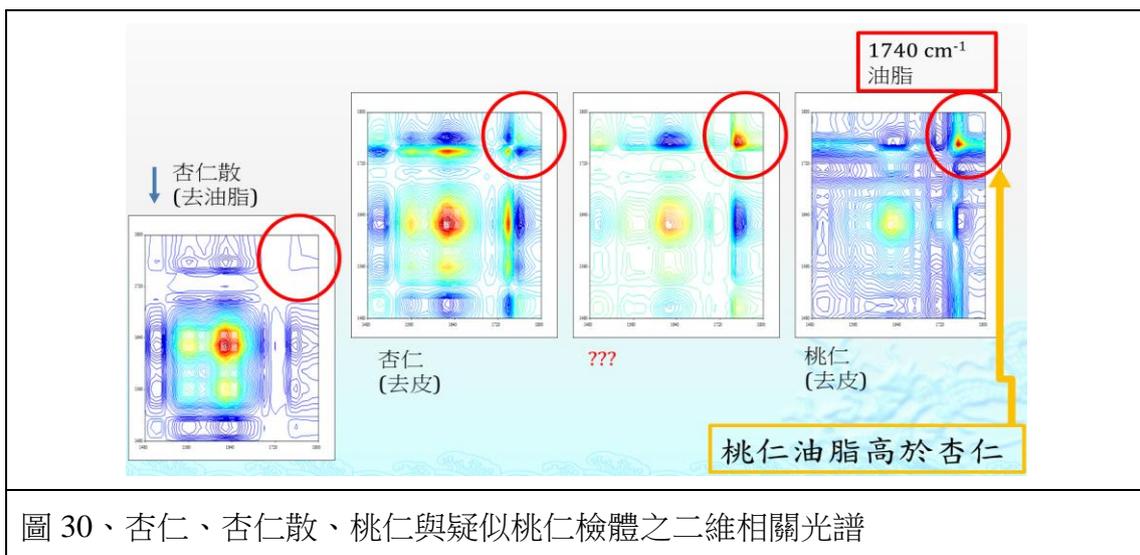


圖 30、杏仁、杏仁散、桃仁與疑似桃仁檢體之二維相關光譜

圖 30 所顯示 1740 cm^{-1} 吸收峰為脂羰基吸收振動峰，代表含有油脂，藉著二維相關光譜的顏色強弱，說明桃仁富含油脂，4 件檢體之油脂含量由高至低依序為疑似山桃仁檢體、桃仁、杏仁及杏仁散。

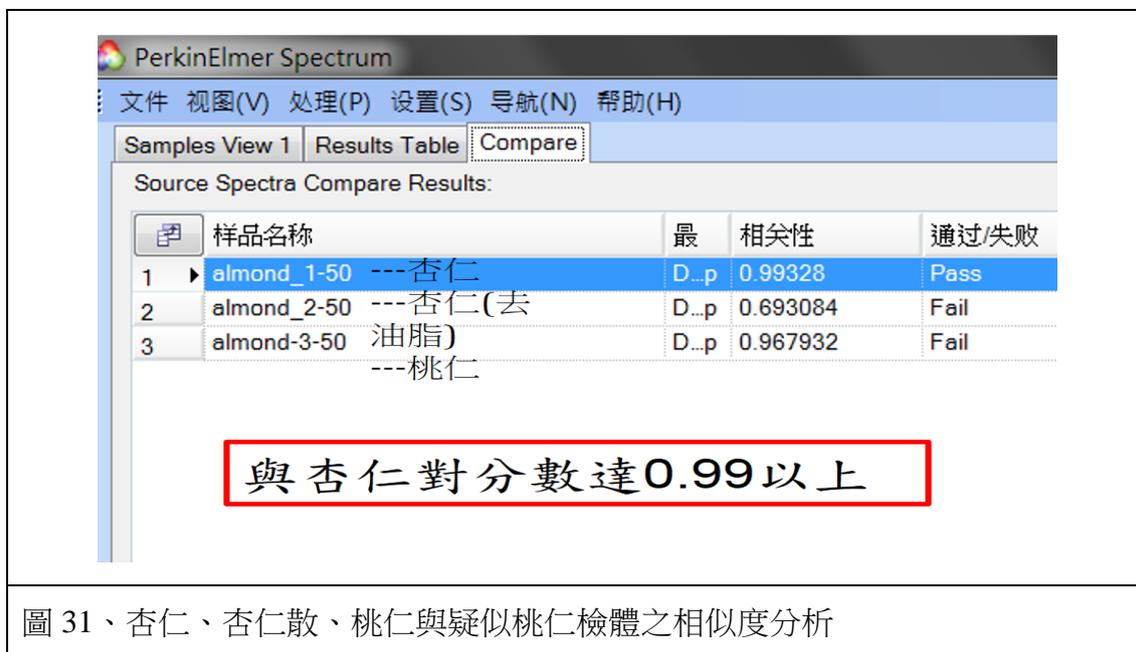


圖 31、杏仁、杏仁散、桃仁與疑似桃仁檢體之相似度分析

計算桃仁與杏仁的紅外光譜相關係數，可以簡單快速地得到量化的評價結果。經比對疑似山桃仁檢體與桃仁的相關係數為 0.967932，低於與杏仁的相關係數 0.99328，從圖 31 可以看出，疑似山桃仁檢體與杏仁的相關係數高於桃仁，這個比對結果與紅外光圖譜之判讀結果是一致的。

六、相似度量化比較軟體應用

AssureID：Qualification

本次交流主要學習 AssureID 軟體。AssureID 為美商珀金埃爾默股份有限公司開發之軟體。軟體之功能及應用時機如下：

軟體「AssureID Method Explorer (Application Version:4.1.0.0195)」

功能：紅外光光譜(IR)分析軟體，主要是利用光譜建立分群模型，用以區別不同樣品群體或分辨樣品所屬群體。當實驗人員收集數種光譜(大於 20 張光

譜)後，可以藉由此軟體建立分群模型。模型建立前，相關分析數據調整及收集。

應用時機：藉由檢測檢體光譜的分群，辨別檢體之可能物種或產地。

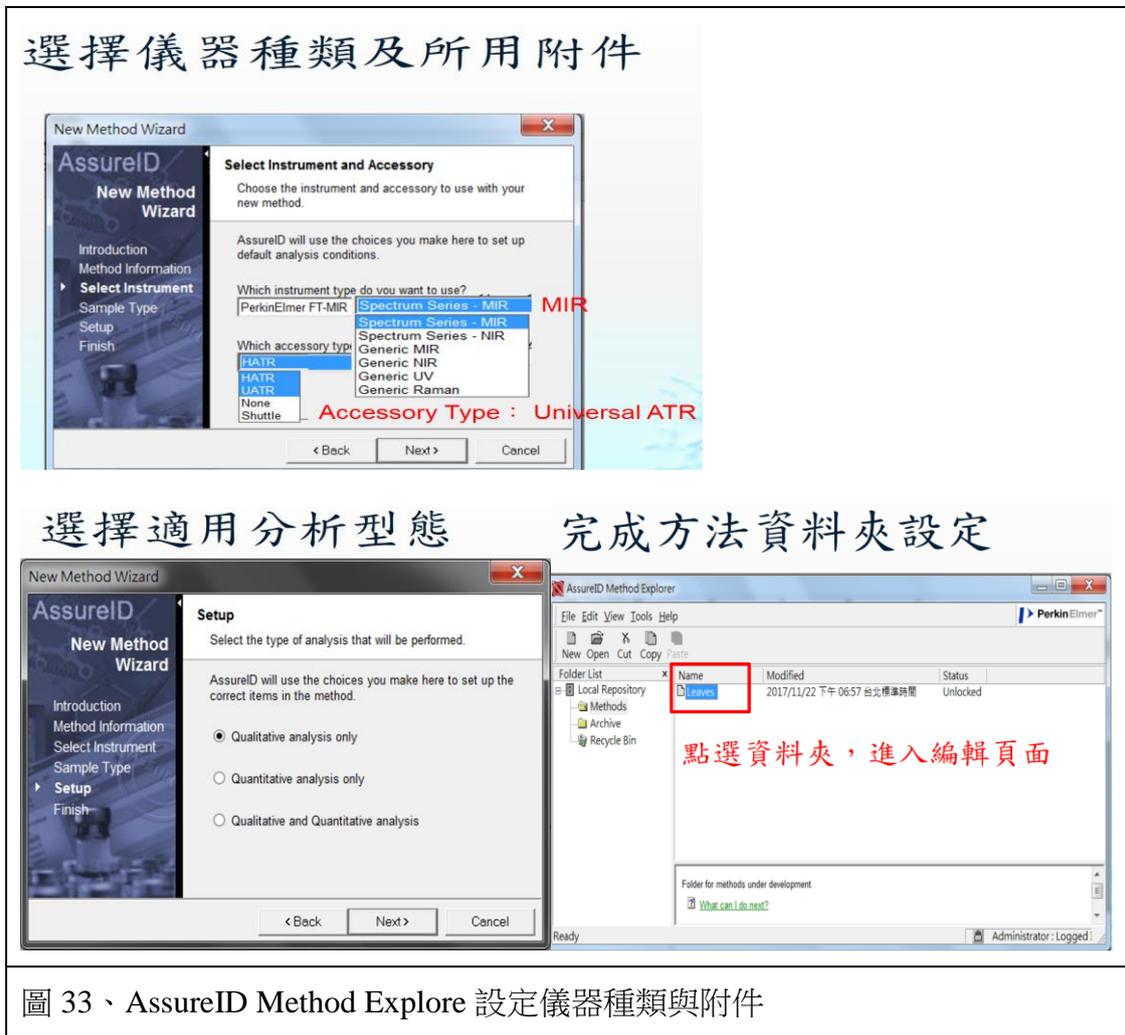
介面介紹：

使用步驟大致有四個：建立資料夾、輸入資料、產生模型以及驗證模型。



圖 32、AssureID Method Explorer 建立資料夾

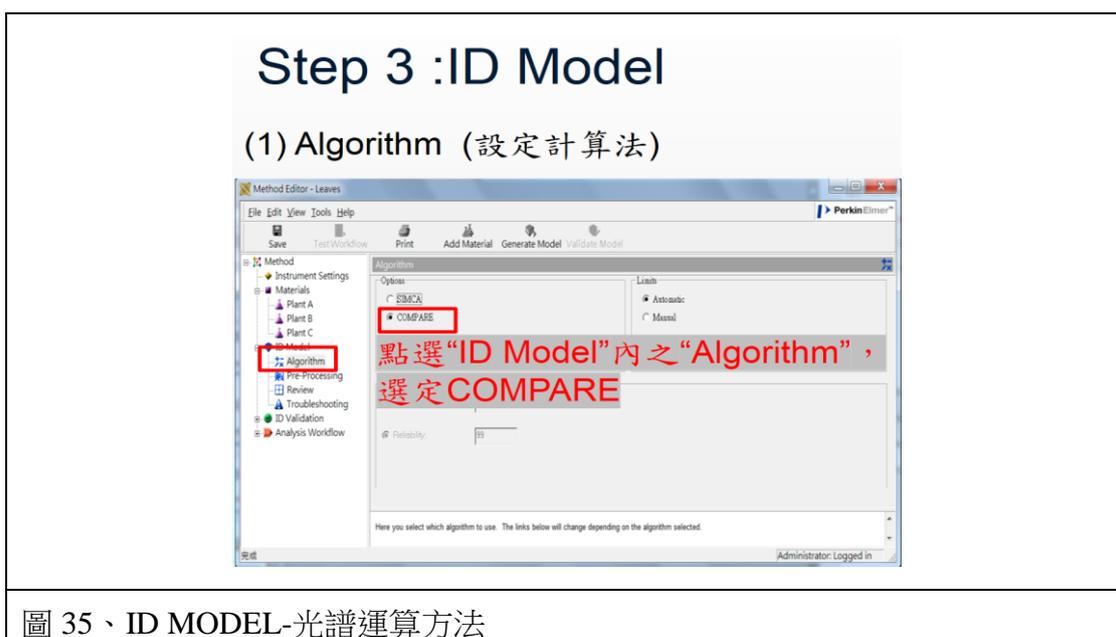
依照圖 32 操作，STEP 1 為建立專用資料夾，在圖 33 中，根據所使用的光譜儀類型及其附件形態進行選擇，及根據模型使用目的選擇定性或定量分析。



完成資料夾建立後，接著依圖 34 所示步驟，分別輸入經分析已可正確歸類的各類已知樣本，又稱訓練集樣本，以此建立每一類的模型。



在輸入所有圖譜後，STEP 3，首先須要決定圖譜的運算方法，模型設定如用於定性，選定 COMPARE，如用於定量，則選定 SIMCA，如圖 35。



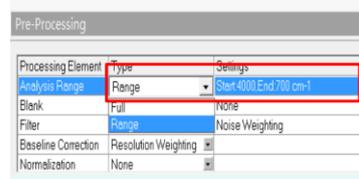
紅外光圖譜的指紋圖譜區間係介於 $600\sim 1500\text{ cm}^{-1}$ 。以 IR 檢測分析方法為基礎之化學模式識別，係使用指紋圖譜對整體成分進行控制，對某些特定的成分進行定性和定量。為了有效分析圖譜，必須對圖譜進行事先處理，削減水氣及二氧化碳或其他雜質可能帶來的雜訊與干擾，以利於紅外光譜的判別與規則建立。

圖 36 所顯示之 Pre_Processing 共有五種型態之圖譜參數，分別是 Rang、Blank、

Filter、Baseline correction 以及 Normalization。可依據模型需求，進行適當選擇，以求最佳模型。模型建立後，可於 Troubleshooting 頁面，檢查前面所輸入資料是否有重複或異常現象，如有前述問題，可再回到 Material 頁面，將異常資料進行刪除，再重新產生模型(圖 37-38)。

Step 3 :ID Model

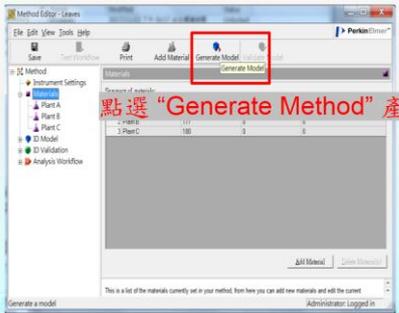
◆ (2) Pre-Processing (設定圖譜參數)



設定圖譜參數
Rang:600~1800 cm⁻¹

Step 3 :ID Model

◆ (3) 建立模型及檢查模型



點選“Generate Method”產生模型

圖 36、ID MODEL-設定圖譜參數



1.點選ID Model畫面：
確認模型之初步結果

2.Summer內顯示有兩筆資料重複



Troubleshooting 頁面，
可檢視資料詳細狀況

Material	Type	Associated Items
1 Plant A	Extreme Sample	YX-12-F-16
2 Plant A	Overlap	Plant B
3 Plant B	Extreme Sample	ZYB-18-z-2
4 Plant B	Overlap	ZYB-15-z-7
5 Plant C	Extreme Sample	ZYB-8-z-8
		zijing-40-t-5

圖 37、ID MODEL-_Troubleshooting

回Step2 刪除重複資料除

Samples:

Sample ID	Type	Comment
162 YX-12-F-14	In-Specification	Sample 274 By Chenjo Date Friday, July 22 2016
163 YX-12-F-15	In-Specification	Sample 275 By Chenjo Date Friday, July 22 2016
164 YX-12-F-16	In-Specification	Sample 276 By Chenjo Date Friday, July 22 2016
165 YX-12-F-16	In-Specification	Sample 276 By Chenjo Date Friday, July 22 2016
166 YX-12-F-17	In-Specification	Sample 277 By Chenjo Date Friday, July 22 2016
167 YX-12-F-18	In-Specification	Sample 278 By Chenjo Date Friday, July 22 2016

Collect... Import... Export... View... Delete Sample(s)

圖 38、Material-刪除重複資料

所建立的分類規則或稱分類模型是否適用，須進入 Review 頁面，檢視模型之分類效能狀況，圖 40 所顯示的識別率(Recognition)及拒絕率(Rejection)係以用來建立模型的同一批訓練集樣本依據已建立好的分類規則，進行分類後所得的分數。圖 39 顯示識別率為 97% 以上，拒絕率低於 90%，這可以透過調整前述的 5 種參數，提升模型的分類效能，以使模型能獲得最佳的拒絕率與識別率。

Review 頁面：模型適用性之判斷

Method

- Instrument Settings
- Materials
- ID Model
 - Algorithm
 - Pre-Processing
 - Review**
 - Troubleshooting
- ID Validation
- Analysis Workflow

Classification Performance Report

Material	% Recognition rate	% Rejection rate
Plant A	97(175/180)	66(236/357)
Plant B	98(173/177)	69(248/360)
Plant C	99(178/180)	96(343/357)

接受率及拒絕率均須高於98%以上

圖 39、ID MODEL-Review

改變參數，可得較佳結果

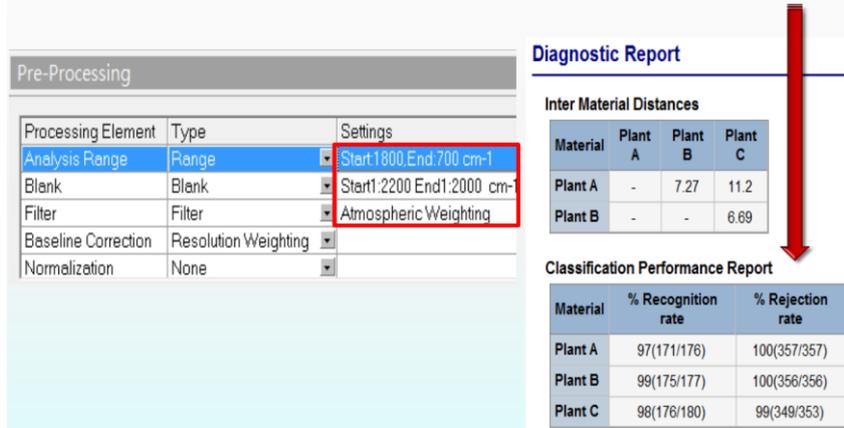


圖 40、ID MODEL-Review

當模型識別率及拒絕率均可達 90% 以上，尚須經過驗證確認模型有效，依據圖 41 所列步驟，以另一批有別於前述的真實具代表性的已知樣本，對該模型的分類規則進行驗證，判別結果如果通過，如圖 42 所顯示，說明該模型是可以有效應用於該類樣本的分類。

Step 4 :ID Validation (驗證模型)

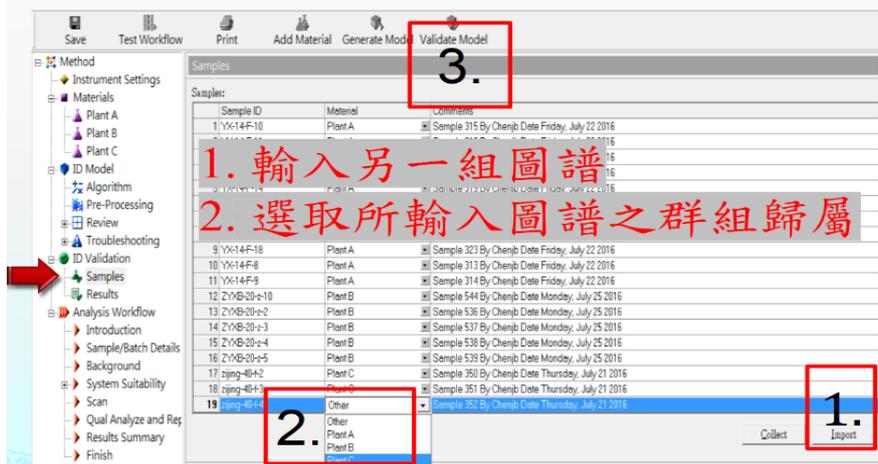


圖 41

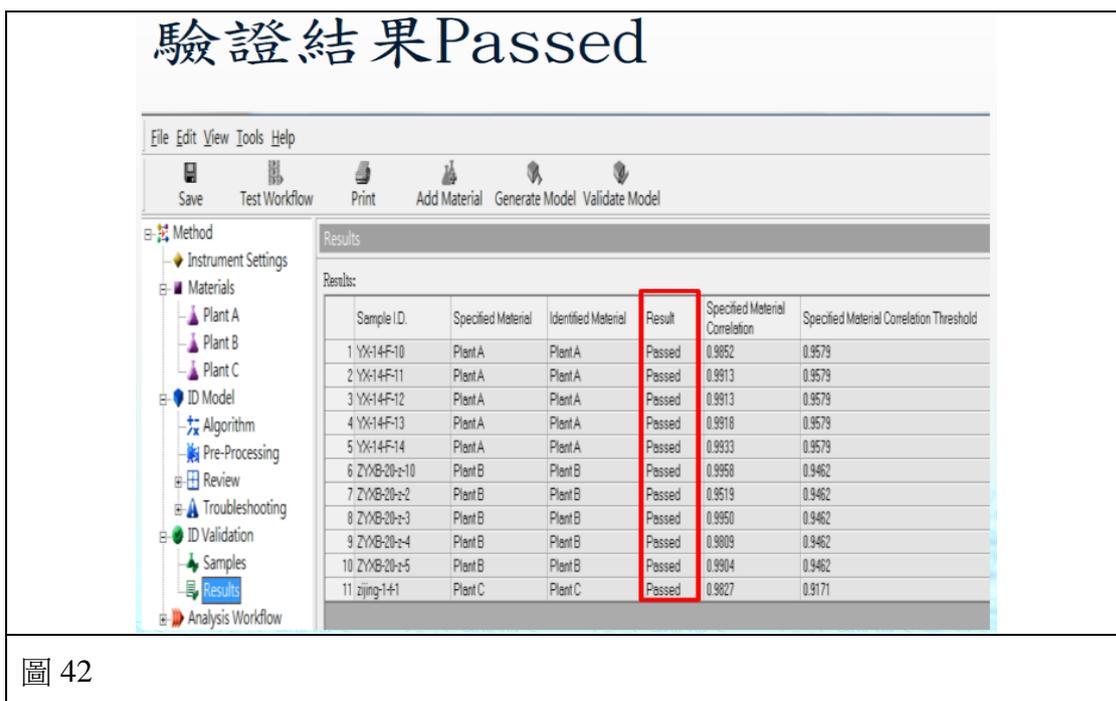


圖 42

中藥材所含成分會因產地、基原、栽培方式及炮製方法的不同而產生質與量的變化。成分間可能有相互作用，改變吸收峰特徵，產生非線性疊加。換句話說，混合物的光譜並非完全是個別成分的線性疊加。中藥材為許多天然活性成分的加總，因此，中藥材紅外光圖譜的變化可能是隱藏而細微的，透過統計軟體協助，可對多元來源與炮製方式不同之大量檢體，以量化的方式，快速依整體的共同特徵與差異特徵進行歸類，以因應未知來源的相關檢體或是作為中藥材道地性與否之判別依據。在建立化學模式鑑別前所須準備工作，簡單歸納如下：

1. 收集足夠量具有代表性的真實藥材(如檢體來源、使用部位)。
2. 根據官方或公認的標準方法鑑定所取得的藥材的質與量 (確認藥材身分與道地性)。
3. 用統一的樣品處理與測試方式取得紅外光圖譜。
4. 從紅外光圖譜找出共同特徵及差異特徵。
5. 建立相應的判別規則並驗證規則的有效性(預測率)。
6. 可另取盲樣檢體，作進一步測試。
7. 模型確立後，在用於未知物鑑定前，要注意的是必須以相同方法進行檢體前處理，並以相同的檢測附件進行分析。

七、心得及建議

職等有幸奉派赴中國北京清華大學進行為期 6 天的「食品及藥物檢驗技術與數據庫分析應用」學術交流，此次研習內容充實，舉凡紅外線光譜在食品與中藥的應用、質譜實驗室設備等介紹。另外至河北省安國收集中草藥材，並瞭解享有「天下第一藥市」美譽的安國藥市發展情形。這 6 天的研習過程中，承蒙北京清華大學分析中心孫素琴研究員及其助理的協助與指導，才能在這短短的時間中，不僅學習到許多檢驗技術，也認識了一些朋友，以下分享交流後之心得：

食品與藥品的紅外線光譜檢測技術：

食品與藥品的紅外線光譜檢測技術為本次研習的主軸，也花費了許多時間在交流討論與實作上。首先要感謝孫老師就其累積豐富的學識不吝分享，其中印象深刻的是，孫老師針對我們的問題，馬上發給考卷來場測驗，雖然一時之間有些慌張，但就幾題的演練，確實更增學習效率。另外，馬老師扮演實驗助教的角色，從旁協助準備試藥、器材與儀器等，除此之外，也即時協助解決許多實驗的疑問。

收集中草藥材：

安國藥市位於河北省，距離北京清華大學約 196 公里，在行程前原有打算自行前往，後因孫老師非常熱情的幫我們請託黃老師開車載我們，另也請馬老師陪我們一起前往。由於路途遙遠，早上 6 點出門抵達安國數字中藥都已是下午 1 點多，因空間大、藥材玲瓏滿目，所以我們三人分散四處尋找藥材。其中有個小插曲，我們買某藥材時，老闆隨手一抓說 100 g 隨便賣便裝入袋，我們想到入口邊有秤量器，半信半疑秤了一下發現才 50 g，還好老闆也很快將所剩都補還給我們。因現場許多藥材店家都打烊了，所以我們又到東方藥城尋找。東方藥城屬傳統藥市，街道藥材以一袋袋大量裝直接擺置於露天下，無論是粉狀、葉、果實、蟲體等皆如此。雖然店家都還開著，但後來還是敗興而歸，因為現場至少需 1 公斤才願出售。這趟路途相當遙遠，來往耗近 12 小時以上的車程，路途有些顛

頗，我們三人各自找尋最舒適坐姿，或許都暈車了，安靜無法言語，實屬難得購買中藥材經驗。

各國藥典中，紅外光光譜應用於分析單一物質，是作為鑑別該有機化合物官能基的有力工具，因透過測定單一分子內振動與轉動能量的技術來瞭解分子的結構，特定分子的官能團會吸收特定頻率的紅外光，故紅外光光譜分析可鑑定有機化合物的結構。然而紅外光光譜應用於複雜的混合物分析，如中藥材或中藥製劑、食品及藥物摻偽，目前相對少有相關研究或論述。然而，因紅外光光譜儀有前處理簡單、不破壞樣品等優點，極為適合開發成為快速篩檢的方法。透過與孫老師的討論，學習到紅外光光譜資料庫的建檔及應用中要注意的原則，本署若能克服標準品或參考物質的蒐集困難，定能發展出一套簡單快速的未知物檢驗分析方法，或搭配其他領域儀器如質譜，更快速地確認物質性質及結構。

在中藥研究檢驗上首先要有系統且大量的進行紅外光光譜分析，收集及建立具化學模式識別資料庫：(1) 符合標準的 IR 分析實驗室提升圖譜分析品質與再現性，首先必須克服環境高濕度之狀況(溫溼度低於 40%，KBr 以結晶塊取代粉末，紅外光照射燈)。(2) 與收集藥材的專業機構合作，收集足夠量及具有代表性的中藥材。(3) 搭配傳統或公認的方法同步進行分析，作為交叉驗證。(4) 以紅外線光譜儀與化學計量學逐步分析單一中藥材，建立其資料庫圖譜，作為區辨不同基原的中草藥資料庫。並搭配化學計量學軟體，包括相似度評價、PCA、多組分定量分析及資料庫，在完整的紅外光光譜資料庫基礎上，利用統計分析方法建立適合的模組後，快速的辨別待測物歸類。

希望這次北京清華大學之行，可將已習得之紅外光光譜學理、經驗之交流，進一步推廣至未知物或混合物之檢驗，為本署研究檢驗工作注入新力，以下提出幾點建議供參：

1. 持續維持雙方之良好溝通管道：

此次與北京清華大學學術交流，獲益良多，彼此分享食品與藥品的紅外線光

譜檢測技術，此外也瞭解許多孫素琴老師在過去的研究題目、方向與內容。這些寶貴的經驗與知識，將提供未來在從事相關研究工作或突發事件的因應等，奠定了良好的根基。而藉由本次的交流雙方持續維持交流的平台，讓彼此都能更瞭解雙方國內所提供的重大訊息或發生的重要事件等，作為在未來執行工作的借鏡。

2. 持續鼓勵同仁積極參與赴中國交流：

中國鄰近台灣，針對一些食品及中藥材分析檢驗方法研究的內容完整，且持續進行修正或更新，北京清華大學執行相關食品及中藥材分析檢驗研究的經驗豐富，是個非常好的學習對象。此外，中國在食品、中藥材上具豐富多樣資源。為擴增國內執行食品及中藥材之分析檢驗研究量能並加速檢驗技術之精進，憑藉著語言、文化等共通性，並結合北京清華大學的專業技術經驗，必能有效增進國內食品、中藥材之分析檢驗研究。

肆、附錄

參考資料

孫素琴、周群、陳建波編著。中藥紅外光譜分析與鑑定。北京：化學工業出版社，2010。

孫素琴、周群、秦竹編著。中藥二維相關紅外光譜鑑定圖集。北京：化學工業出版社，2003。

孫素琴、周群、陳建波編著。ATC 009 紅外光譜分析技術。北京：中國質檢出版社及中國標準出版社，2013。

劉新裕、林俊義、張成國。藥用植物專輯。行政院農業委員會農業試驗所，2002。

謝宗芳。本草綱目藥物彩色圖鑑。北京：人民衛生出版社，2008。

黃昱綺、黃竹珈、陳品秀著。藥品檢驗分析技術應用研習。台灣：出國報告，2016。

珀金埃爾默儀器（上海）有限公司。FTIR 紅外培訓手冊-Spectrum 10.0 操作說明。

徐雅慧、羅吉方、張憲昌、林哲輝。藥物食品檢驗局調查研究年報：25:110-118
2007。