

声光可调-近红外漫反射光谱法快速评价满山红药材质量

边雨¹, 佟志军², 魏晓雨¹, 刘松枝², 徐杰¹, 宋德库², 王美慧¹, 姜文月^{1*} (1.吉林省现代中药工程研究中心有限公司, 长春 130012; 2.吉林天力泰药业有限公司, 吉林 白山 134400)

摘要: 目的 建立一种快速评价满山红药材质量的方法。方法 按中国药典 2015 年版满山红项下方法, 对满山红药材水分、总灰分、酸不溶灰分及杜鹃素含量进行测定(作参考值); 采用 The Unscrambler 分析软件, 以偏最小二乘法和交叉-验证法建立满山红药材中水分、总灰分、酸不溶灰分及杜鹃素的定量校正模型(作预测值)。结果 药材样品中水分、总灰分、酸不溶灰分及杜鹃素定量模型交叉验证相关系数分别为 0.928 6, 0.918 5, 0.957 6, 0.928 9; 校正均方根偏差(RMSEC)分别为 0.087 5, 0.144 7, 0.012 8, 0.003 2; 预测均方根偏差(RMSEP)分别为 0.305 5, 0.232 1, 0.016 0, 0.004 9; 外部验证偏差分别为 1.01%, 1.46%, 2.65%, 3.64%。结论 该方法快速、准确、简便、无污染, 可用于满山红药材质量的快速评价。

关键词: 满山红; 近红外漫反射光谱法; 质量评价

中图分类号: R917.101

文献标志码: B

文章编号: 1007-7693(2020)06-0694-04

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2020.06.011

引用本文: 边雨, 佟志军, 魏晓雨, 等. 声光可调-近红外漫反射光谱法快速评价满山红药材质量[J]. 中国现代应用药学, 2020, 37(6): 694-697.

Rapid Evaluation of the Quality of Rhododendri Daurici Folium by AOTF-NIR

BIAN Yu¹, TONG Zhijun², WEI Xiaoyu¹, LIU Songzhi², XU Jie¹, SONG Deku², WANG Meihui¹, JIANG Wenye^{1*} (1.Jilin Modern Chinese Medicine Engineering and Research Center Co., Ltd., Changchun 130012, China; 2.Jilin Tianlitai Pharmaceutical Co., Ltd., Baishan 134400, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To establish a rapid method for the quality evaluation of Rhododendri Daurici Folium. **METHODS** The contents of moisture, total ash, acid insoluble ash and farrerol were measured with the 2015 edition of Chinese Pharmacopoeia(as a reference). The herbs were analyzed by The Unscrambler program. Quantitative analytical models invoking the partial least square and the cross-validation algorithm simultaneously predicted the contents of four major indexes (as a prediction). **RESULTS** The Cross-validation correlation coefficient of moisture, total ash, acid insoluble ash and farrerol were 0.928 6, 0.918 5, 0.957 6 and 0.928 9. Root Mean Square Error of Calibration(RMSEC) of the correction set were 0.087 5, 0.144 7, 0.012 8 and 0.003 2, and the root mean square error of prediction(RMSEP) were 0.305 5, 0.232 1, 0.016 0 and 0.004 9; The external validation deviations were 1.01%, 1.46%, 2.65% and 3.64%. **CONCLUSION** The method is rapid, accurate, simple and pollution-free, and can be used for rapid evaluation of the quality of Rhododendri Daurici Folium.

KEYWORDS: Rhododendri Daurici Folium; AOTF-NIRS; quality evaluation

中药满山红为杜鹃花科植物兴安杜鹃 *Rhododendron dauricum* L. 的干燥叶^[1], 俗称迎山红、映山红、靠山红等, 其味辛、苦, 性寒。主要分布于东北地区。其化学成分主要分为黄酮类、香豆素类、挥发油类和有机酸类^[2-4], 具有止咳祛痰的作用, 疗效好, 且不良反应小, 常用于治疗各类支气管炎、哮喘等病症^[5-7]。在中国药典 2015 年版中, 满山红的质量控制参数主要包括水分、灰分、酸不溶灰分及杜鹃素的含量, 而上述 4 种指标测定方法均较复杂, 导致检测效率降低。因

此, 建立一种快速有效的检测方法对满山红药材质量控制具有重要意义。

近红外(NIR)光谱技术是近年来发展迅速的一种绿色分析技术, 实现产品快速质量分析, 并且样品无需进行复杂处理即可直接进行检测, 操作简便, 已被广泛应用于农业、生物医学、石油化工等领域^[8-9]。故本研究以满山红药材中水分、灰分、酸不溶灰分及杜鹃素为指标, 应用声光可调(AOTF)-近红外(NIR)光谱技术建立快速通用的多指标测定方法, 旨在为满山红整体质量的快速评价提供依据。

基金项目: 吉林省科技发展规划资助项目(20170307019YY)

作者简介: 边雨, 女, 硕士, 助理工程师 Tel: 13500827942
工程师 Tel: 18844092291 E-mail: jiangwenye1987@126.com

E-mail: bianyuww1990@126.com

*通信作者: 姜文月, 女, 博士, 工

1 仪器与试剂

Luminar-5030 型 NIR 仪(包括样品旋转台、石英样品杯、SNAP 光谱分析软件, 济南金宏利实业有限公司); U3000 型高效液相色谱仪(美国 Thermo 公司); SX-5-12 型箱式电阻炉控制器(天津市泰斯特仪器有限公司); ME204E 双量程电子天平(梅特勒-托利多仪器有限公司); SB-1200D 超声清洗机(宁波新芝生物科技股份有限公司)。

35 批满山红药材来源于吉林长白山、抚松、黑龙江、牡丹江、海林等地, 由吉林天力泰药业有限公司提供; 杜鹃素对照品(中国食品药品检定研究院, 批号: 110850-200604; 纯度: 98.7%); 甲苯(批号: 20170522)、盐酸(批号: 20160308)、磷酸(批号: 20160421)、甲醇(批号: 20170605)均购自北京化工厂; 甲醇(色谱级, Fisher); 水为超纯水。

2 方法与结果

2.1 水分指标含量测定

参照中国药典 2015 年版四部通则^[10]0832 第四法测定, 结果见表 1。

2.2 总灰分及酸不溶灰分的测定

参照中国药典 2015 年版四部通则 2302 测定, 结果见表 1。

2.3 杜鹃素含量测定

参照中国药典 2015 年版中满山红药材含量项下方法测定, 结果见图 1 及表 1。

2.4 NIR 定量模型建立与验证

2.4.1 NIR 光谱采集 将所收集的 35 批次满山红药材进行粉碎(过五号筛), 混合均匀, 取药材约 20 g, 置于光谱采集皿中, 在 1 100~2 300 nm 内扫描, 扫描间隔 2.0 nm^[11-13], 得到药材 NIR 原始光谱图。35 批药材样品近红外光谱叠加图见图 2。

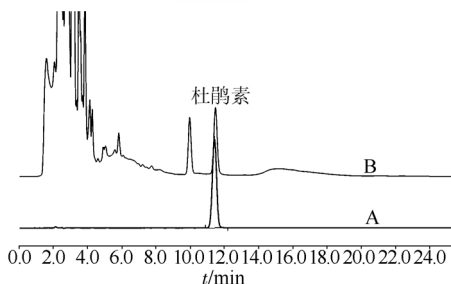


图 1 杜鹃素 HPLC 色谱图

A-对照品; B-供试品。

Fig. 1 HPLC chromatogram of farrerol

A-control; B-sample.

表 1 药材样品各指标测定结果

Tab. 1 Determination results of indicators of samples %

分组	批号	来源地	水分	总灰分	酸不溶灰分	杜鹃素
校正集	150116	黑龙江海林	7.35	4.85	0.65	0.082
	150124	黑龙江牡丹江	6.82	5.88	1.24	0.121
	150221	朝鲜	5.82	4.26	0.34	0.104
	150224	黑龙江	6.84	6.16	1.15	0.129
	151103	黑龙江海林	7.67	5.69	0.76	0.111
	151113	广西玉林	7.01	5.47	0.72	0.109
	151204	吉林长白山	7.64	5.07	0.74	0.058
	160114	吉林抚松	5.68	5.22	1.24	0.098
	160201	吉林抚松	6.32	5.56	0.88	1.113
	160210	吉林抚松	6.76	5.29	0.72	1.121
	161016	吉林长白山	7.32	5.66	1.13	0.112
	161128	黑龙江海林	5.98	5.72	1.06	0.139
	161204	黑龙江海林	5.28	5.27	0.82	0.120
	161220	黑龙江海林	7.14	5.69	1.09	0.131
	170103	黑龙江海林	6.28	5.28	0.90	0.124
	170113	黑龙江	6.17	5.96	1.13	0.139
	170203	黑龙江	5.92	6.04	1.51	0.131
	170220	黑龙江	7.38	5.47	0.90	0.142
	170314	黑龙江	7.82	5.43	0.86	0.106
	171025	黑龙江	6.34	6.01	0.72	0.148
	171119	黑龙江	7.34	5.33	1.03	0.093
验证集	171204	吉林抚松	5.28	5.92	0.96	0.107
	171207	吉林抚松	5.96	5.47	0.87	0.098
	171216	吉林抚松	6.34	6.12	0.99	0.113
	180106	广西玉林	7.35	6.01	0.92	0.082
	180113	广西玉林	7.24	5.78	1.02	0.091
	180125	吉林长白山	5.93	5.64	0.88	0.112
	180213	黑龙江	6.43	5.89	0.90	0.103
	180214	黑龙江	7.65	5.77	0.87	0.108
	180225	黑龙江	5.86	5.27	0.96	0.121
	150403	黑龙江牡丹江	6.57	4.87	0.31	0.111

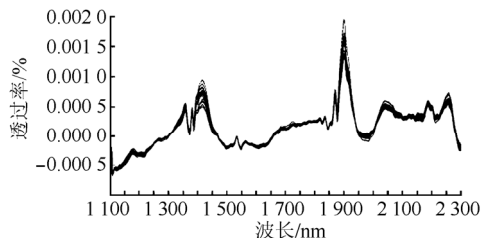


图 2 35 批药材样品近红外光谱原始叠加图

Fig. 2 NIR original spectral superposition diagram of 35 batches of samples

2.4.2 校正集与验证集样品的选择 根据表 1 所得各指标结果分布情况,从 35 批样品中选取 30 批组成校正集,用于建立模型;其余 5 批样品组成验证集,用于验证模型,结果见表 2。

表 2 校正集与验证集药材样品各指标的分布范围
Tab. 2 Distribution range of indicators of samples in correction set and validation set %

分集	水分含量	总灰分含量	酸不溶灰分含量	杜鹃素含量
校正集(n=30)	5.28~7.67	4.26~6.16	0.34~1.51	0.058~0.148
验证集(n=5)	6.57~7.51	4.37~5.36	0.31~0.49	0.096~0.124

2.4.3 光谱预处理方法的选择 光谱预处理方法选择一阶导数法、二阶导数法^[10]分别与平滑降噪法结合,得到不同的校正集交叉验证相关系数(R^2)、校正均方根偏差(RMSEC)和预测均方决定差(RMSEP),结果见表 3。

表 3 不同光谱预处理方法对定量校正模型性能的影响
Tab. 3 Effects of different pretreatment methods on quantitative model performance

指标	二阶导数法+平滑降噪法			一阶导数法+平滑降噪法		
	R^2	RMSEC	RMSEP	R^2	RMSEC	RMSEP
水分	0.927 7	0.086 2	0.302 1	0.928 6	0.087 5	0.305 5
总灰分	0.917 3	0.141 2	0.231 8	0.918 5	0.144 7	0.232 1
酸不溶灰分	0.956 9	0.011 3	0.014 4	0.957 6	0.012 8	0.016 0
杜鹃素	0.926 1	0.002 3	0.003 7	0.928 9	0.003 2	0.004 9

运用 The Unscrambler 软件对表 1 数据与 NIR 光谱进行关联,采用偏最小二乘法与交叉-验证法建立 NIR 定量分析模型。选择 R^2 、RMSEC、RMSEP 为评价指标,综合评价模型的准确性和适用性。其中, R^2 越接近 1, NIR 模型预测值与实测值相关性越好; RMSEC 与 RMSEP 越接近,且 RMSEC 略小于 RMSEP,所建模型适用性越强,预测效果越好^[14-15]。结果“一阶导数法+平滑降噪法”预处理效果最好,经该处理方法处理后得 NIR 图见图 3。

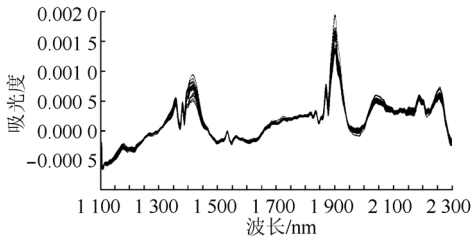


图 3 预处理后的近红外光谱
Fig. 3 Near infrared spectrum after pretreatment

2.4.4 建立 NIR 定量模型 将样品各指标测定结果与预处理后的 NIR 光谱相结合,用 The Unscrambler

定量分析软件,以偏最小二乘法和交叉-验证法建立各指标校正模型。采用光谱影响值 Leverage 和化学值误差 Residual 等统计量检验,剔除 NIR 光谱与各指标测定结果的异常值,并根据模型主要参数(R^2 、RMSEC、RMSEP 等)进行筛选优化,确定各指标 NIR 检测模型。结果显示各指标 $R^2>0.9$,表明样品实测值与 NIR 定量模型预测值相关性良好,模型性能较好。4 个指标的 NIR 定量模型参数结果见表 4,模型图见图 4。

表 4 定量模型结果
Tab. 4 Results of quantitative model

指标	R^2	RMSEC	RMSEP
水分	0.928 6	0.087 5	0.305 5
总灰分	0.918 5	0.144 7	0.232 1
酸不溶灰分	0.957 6	0.012 8	0.016 0
杜鹃素	0.928 9	0.003 2	0.004 9

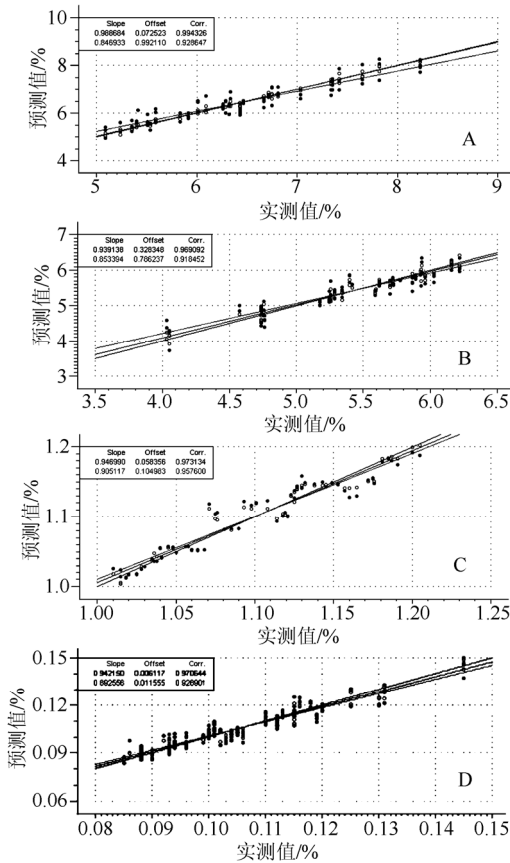


图 4 模型图
A-水分模型; B-总灰分模型; C-酸不溶性灰分模型; D-杜鹃素模型。
Fig. 4 Model diagram
A-moisture model; B-total ash model; C-acid insoluble ash model; D-farrerol model.

2.4.5 NIR 定量模型验证 利用未参与建模的 5 批次满山红药材样品进行模型外部验证,采集 5

批样品 NIR 光谱, 并采用一阶导数 9 点平滑法 (Savitzky-Golay) 进行光谱处理, 将处理的光谱数据导入 The Unscrambler 分析软件, 调用已建立的各项指标 NIR 定量模型, 对外部样品进行分析即得预测值, 计算预测值与实测值偏差, 验证模型准确性。各指标的预测结果见表 5, 偏差值计算公式如下:

$$\text{偏差}(\%) = \frac{|\text{实测值} - \text{预测值}|}{\text{实测值}} \times 100\%$$

表 5 定量模型验证结果

Tab. 5 Results of quantitative model verification

指标	批号	实测值	预测值	偏差/%	平均偏差/%
水分	150403	6.57	6.66	1.37	1.01
	150407	7.24	7.15	1.24	
	160405	7.45	7.37	1.07	
	171213	7.51	7.43	1.07	
	171220	6.58	6.56	0.30	
总灰分	150403	4.87	4.82	1.03	1.46
	150407	5.04	5.00	0.79	
	160405	4.37	4.49	2.75	
	171213	4.74	4.79	1.05	
	171220	5.36	5.27	1.68	
酸不溶灰分	150403	0.31	0.32	3.23	2.65
	150407	0.47	0.48	2.13	
	160405	0.49	0.49	0.00	
	171213	0.39	0.41	5.13	
	171220	0.36	0.35	2.78	
杜鹃素	150403	0.111	0.114	2.70	3.64
	150407	0.096	0.101	5.21	
	160405	0.118	0.122	3.39	
	171213	0.112	0.117	4.46	
	171220	0.124	0.121	2.42	

3 结论

本研究采用 AOTF-NIR 法建立一种快速测定满山红药材中水分、总灰分、酸不溶灰分及杜鹃素含量的分析方法, 模型相关性良好, 准确性较高。按现有的质量标准对满山红药材进行常规检测, 每批次药材检测时间需约 4~7 h, 而本研究所建立的检测方法, 仅需 15~30 s 即可获取各指标含量数据, 大大减少检测时间, 并且降低检测成本, 提高工作效率, 满足药材的检测需求。若进一步增加药材样品数量, 扩大模型覆盖范围, 可以建立更加稳定的模型^[16], 为药材的整体质量快速评价提供理论基础。

5 批次验证样品中杜鹃素含量预测值与 HPLC 实测值偏差平均值为 3.64%, 水分、总灰分、酸不溶灰分含量的预测值与实测值偏差平均值分别为 1.01%, 1.46%, 2.65%, 偏差均值 < 5%。由此可见, 各指标 NIR 检测模型预测值与常规检测方法测定值之间相关性良好, 测定准确性较高。

REFERENCES

- [1] 中国药典. 一部[S]. 2015.
- [2] 赵宝琴, 高陆. 满山红化学成分和药理学研究进展[J]. 人参研究, 2015, 27(1): 42-44.
- [3] HU D B, ZHAO J X. Density functional theory investigation on antioxidation activity of four flavonoids from Rhododendri Daurici Folium [J]. China J Chin Mater Med(中国中药杂志), 2016, 41(14): 2675-2679.
- [4] 付晓丽, 张立伟, 林文翰, 等. 满山红化学成分的研究[J]. 中草药, 2010, 41(5): 704-707.
- [5] 李丽, 方芳, 陈立峰, 等. 满山红的化学成分及药理作用[J]. 黑龙江医药科学, 2009, 32(3): 64-65.
- [6] 李松, 郑旭. 止咳祛痰的满山红[J]. 首都食品与医药, 2017, 24(19): 49.
- [7] YUAN Z B, SUN W X, ZHANG L H. The rhododendron oil pouch relieves a cough thephlegm reduction effect clinical observation [J]. China Pract Med(中国实用医药), 2009, 4(6): 80-82.
- [8] LIU K. Application about infra-red technology in color sorter of agriculture [J]. Agricult Eng(农业工程), 2017, 7(5): 73-75.
- [9] WENG W J, LUO X J, ZHANG Y, et al. Study on correlation between film thickness and dispersion uniformity of kang gong-yan dispersible tablet by near infrared spectroscopy [J]. Chin J New Drugs(中国新药杂志), 2019, 28(9): 1048-1056.
- [10] 中国药典. 四部[S]. 2015.
- [11] SU T, LI Y D, ZHENG G J, et al. A new method for rapid detection of tanshinone I in *Salvia miltiorrhiza* by AOTF-NIR [J]. World Latest Med Inform(世界最新医学信息文摘), 2017, 17(68): 196-197.
- [12] 丁银花, 毕宇安, 曹燕飞, 等. AOTF 近红外光谱技术快速测定茯苓中的水分[J]. 药学与临床研究, 2014, 22(3): 209-211.
- [13] WU W H, WANG N, SHI J Y et al. Rapid nondestructive quality control of Compound Danshen Tablet by AOTF near infrared spectroscopy [J]. Chin Tradit Patent Med(中成药), 2010, 32(7): 1140-1144.
- [14] 王动民, 纪俊敏, 高洪智. 多元散射校正预处理波段对近红外光谱定标模型的影响[J]. 光谱学与光谱分析, 2014, 34(9): 2387-2390.
- [15] LEI J W, FAN M Y, GUO Y L. Rapid determination of costunolide and Dehydrocostus Lactonein Radix Aucklandiae by near-infrared spectroscopy [J]. Nat Product Res Dev(天然产物研究与开发), 2014, 26(7): 1062-1066.
- [16] YAN Y, YIN G, LIU K S, et al. Rapid identification of Sanjiu Weitai granule and quantitative analysis of moisture by near-infrared spectroscopy [J]. China Pharm(中国药房), 2016, 27(18): 2551-2554.

收稿日期: 2019-01-29
(本文责编: 蔡珊珊)