

# 偏最小二乘-紫外分光光度法测定布渣叶中浸出物含量

孙冬梅<sup>1,2\*</sup>, 谭志灿<sup>1</sup>, 毕晓黎<sup>1,2</sup>, 罗文汇<sup>1</sup>, 李养学<sup>1</sup>, 李素梅<sup>1</sup>

(1. 广东省中医研究所, 广州 510095; 2. 广州中医药大学, 广州 510405)

**[摘要]** **目的:**提出一种快速测定布渣叶浸出物含量的新方法。**方法:**运用偏最小二乘法(PLS)建立紫外光谱(UV)与浸出物含量测定值之间的多元校正模型,对未知样品进行含量预测。**结果:**校正模型相关系数( $R^2$ )为0.964 1。验证集预测平均相对偏差为1.73%。**结论:**PLS-UV法具有分析速度快、预测结果准确等优点,适合对组成复杂的中药浸出物进行快速分析,可用于布渣叶药材浸出物的快速测定。

**[关键词]** 偏最小二乘法; 紫外分光光度法; 布渣叶; 浸出物

**[中图分类号]** R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2014)11-0062-04

**[doi]** 10.13422/j.cnki.syfjx.2014110062

## Determination of Extracts in *Microctis Folium* by PLS-UV Spectrophotometry

SUN Dong-mei<sup>1,2\*</sup>, TAN Zhi-can<sup>1</sup>, BI Xiao-li<sup>1,2</sup>, LUO Wen-hui<sup>1</sup>, LI Yang-xue<sup>1</sup>, LI Su-mei<sup>1</sup>

(1. Guangdong Provincial Institute of Traditional Chinese Medicine, Guangzhou 510095, China;  
2. Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510405, China)

**[Abstract]** **Objective:** To develop a novel method for fast determination of extracts content in *Microctis Folium* with PLS-UV Spectrophotometry. **Method:** Multivariate calibration model based on PLS algorithm was developed to correlate the spectra and the corresponding values determined by the reference method. **Result:** The correlation coefficient ( $R^2$ ) of the calibration models was 0.964 1, and the prediction average relative deviation for extracts content were 1.73%. **Conclusion:** PLS-UV technique used in this study is timesaving and accuracy. It is qualified to rapidly analyze the extracts content of traditional Chinese medicine whose components are complex. PLS-UV can be used to determine the extracts content of *Microctis Folium*.

**[Key words]** Partial Least Squares; UV spectrophotometry; *Microctis Folium*; extracts

布渣叶,别名破布叶、泡卜布、麻布叶、崩补叶、烂布渣、山茶叶等,为《中国药典》2010年版一部的新增品种,药材为椴树科植物破布叶的干燥叶<sup>[1]</sup>,属于广东道地药材。本品味微酸,性凉,无毒,具有清热利湿、健胃消滞的功效;用于感冒发热、黄疸、食欲不振、消化不良、脘腹胀痛、泄泻、疮疡、蜈蚣咬伤

等<sup>[2-4]</sup>。作为两广地区民间草物,布渣叶应用广泛,同时具有药用和食用价值。

《中国药典》2010年版一部附录X A 收载了浸出物3种测定方法:水溶性浸出物测定法、醇溶性浸出物测定法和挥发性醚浸出物测定法。由于浸出物测定方法操作繁琐,而且分析时间较长。本文提出了一种快速测定布渣叶药材浸出物含量的新方法,运用偏最小二乘法(PLS)建立紫外光谱(UV)与浸出物含量测定值之间的多元校正模型,对未知样品进行含量预测。该方法满足制药过程中布渣叶药材快速质量控制的要求。

### 1 仪器与试剂

UV-2550型紫外分光光度计(日本岛津),

**[收稿日期]** 20130718(017)

**[基金项目]** 广东省中医药局项目(20111131号);广东省重大科技专项(2012A080202016);广东省中医药局项目(20121242号)

**[通讯作者]** \*孙冬梅,主任中药师,硕士,从事中药质量评价研究, Tel: 020-83482683, E-mail: tanzhican@163.com

XS205DU 型电子分析天平(瑞士 Mettler Toledo), DHG-9203A 型电热恒温鼓风干燥箱(上海索城试验设备有限公司),HWS26 型电热恒温水浴锅(上海双旭电子有限公司),KQ5200DE 型超声提取器(昆山市超声仪器有限公司)。

布渣叶(批号及产地来源见表 1),经广东省中医研究所刘法锦教授鉴定为椴树科植物破布叶 *Microcos paniculata* L. 的干燥叶,为正品;乙醇为分析纯,水为自制纯化水。

表 1 布渣叶药材来源

No.	产地(来源) /采收时间或批号	No.	产地(来源) /采收时间或批号
S1	广东(市售)101128	S24	广东博罗(长有病斑) 20110814
S2	广东(市售)100902	S25	广东阳西古井 20110928
S3	广东(市售)20100101	S26	广东阳西旧仓 20110928
S4	广东(市售)100901	S27	广东阳西上塘 20110928
S5	广东(市售)100906	S28	广东阳西新圩 201108
S6	广西(市售)110716	S29	广东阳西新圩 201109
S7	广东(市售)20100601	S30	广西(市售)20111013
S8	广东(市售)100110	S31	广西(市售)20111102
S9	广西(市售)090815	S32	广西玉林 201112
S10	广东(市售)20100112	S33	广东(市售)201201
S11	广西(市售)20100803	S34	广东肇庆鼎湖山 20111008
S12	广西(市售)090314R502	S35	广东(市售)201201
S13	广西(市售)20091230	S36	广西(市售)201201
S14	广东(市售)20100120	S37	广西(市售)201201
S15	广东(市售)100107881	S38	广东(市售)201201
S16	广东(市售)100802	S39	肇庆高要 201112
S17	广东雷州(晒干)201107	S40	清远阳山 201112
S18	广东雷州(阴干)20110804	S41	茂名高州 201112
S19	广东遂溪(晒干)201107	S42	江门新会 201112
S20	广东遂溪(阴干)20110805	S43	广东(市售)201201
S21	广东化州(晒干)201108	S44	广州白云山 201112
S22	广东化州(阴干)20110806	S45	广州火炉山 201112
S23	广东博罗 20110814	S46	广州花都 201112

## 2 浸出物含量的测定

照《中国药典》2010 年版一部附录 X A 醇溶性浸出物测定法项下的热浸法测定,用稀乙醇作溶剂。

取供试品粗粉约 2.5 g,精密称定,置 250 mL 锥形瓶中,精密加入稀乙醇 100 mL,密塞,称定质量,静置 1 h 后,连接回流冷凝管,加热至沸腾,并保持微沸 1 h。放冷后,取下锥形瓶,密塞,再称定质量,用稀乙醇补足减失的质量,摇匀,用干燥滤器滤过,精密量取续滤液 25 mL,置已干燥至恒重的蒸发皿中,在水浴上蒸干后,于 105 °C 干燥 3 h,置干燥器中冷却 30 min,迅速精密称定质量。以干燥品计算供

试品中醇溶性浸出物的含量(%),结果见图 1。

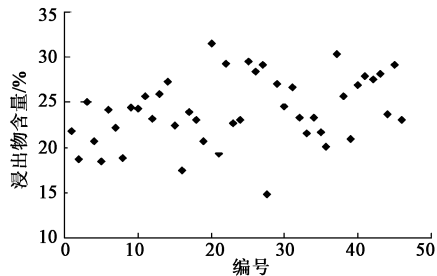


图 1 46 份样品浸出物含量分布图

## 3 紫外光谱的采集

取供试品粗粉约 1 g,精密称定,分别置 100 mL 具塞锥形瓶中,加稀乙醇 50 mL,超声处理 30 min,放冷,滤过,取续滤液 0.5 mL,置 25 mL 量瓶中,加稀乙醇至刻度,即得供试品溶液。

取供试品溶液适量,置 1 cm 石英吸收池中,以相应试剂为空白,照紫外-可见分光光度法(《中国药典》2010 年版一部附录 V A) 试验,波长范围 200 ~ 400 nm,狭缝宽度 1 nm,扫描间隔 1 nm,扫描速度中速。每份样品平行取样 3 次进行测定。46 份布渣叶样品的紫外光谱叠加见图 2,3。

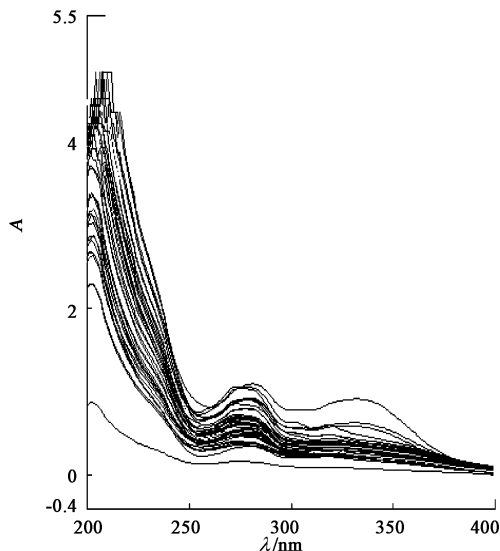


图 2 46 批布渣叶样品紫外光谱叠加

## 4 模型的建立及验证

**4.1 校正集和验证集样品的选择** 从收集到的 46 个样品中,根据其浸出物含量的分布,选取 36 个有代表性的样品组成校正集,剩余 10 个样品为验证集样品,校正集和验证集样品浸出物含量的分布范围分别为 15.08% ~ 31.55% 和 17.47% ~ 30.42%。

**4.2 建模方法的选择** 本试验采用偏最小二乘法(partial least square, PLS)建立布渣叶浸出物含量定量校正模型<sup>[5-16]</sup>,并以校正集均方根误差(RMSE)

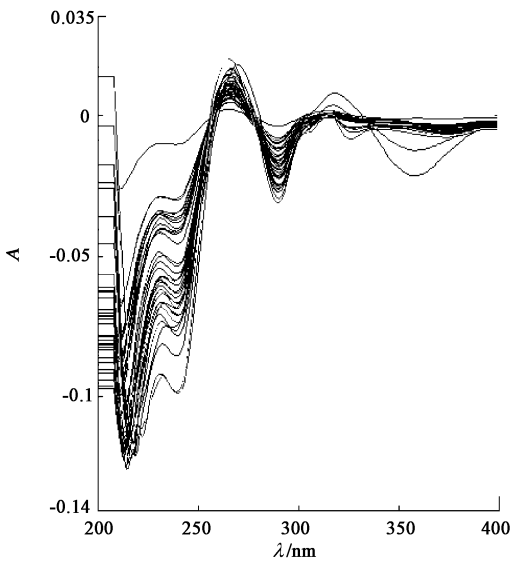


图 3 46 批布渣叶样品紫外一阶导数光谱叠加

来评价模型的拟合效果。

$$RMSE = \sqrt{\frac{\sum (\hat{C}_i - C_i)^2}{m}}$$

式中  $\hat{C}_i$  为 UV 光谱预测值;  $C_i$  为标准方法实测值;  $m$  为校正集样本数。

建模的波长区间是根据光谱图的特征以及“变量重要性”结果选取。本试验在考察波长区间的同时也比较了一阶导数光谱对均方根误差 (RMSE) 和相关系数 ( $R^2$ ) 的影响。结果如表 2 所示, 布渣叶浸出物含量选择紫外一阶导数光谱协同 3 个波长区间建模, 可以使  $R^2$  达到最大的同时 RMSE 最小。导数光谱的优点主要是提高光谱的信噪比和样本间的光谱差异。由于紫外光谱的全谱包含了大量冗余信息, 影响建模的准确度, 因此需要对波长变量进行选择。在相同光谱预处理条件下, 波段选择有利于模型预测精度。

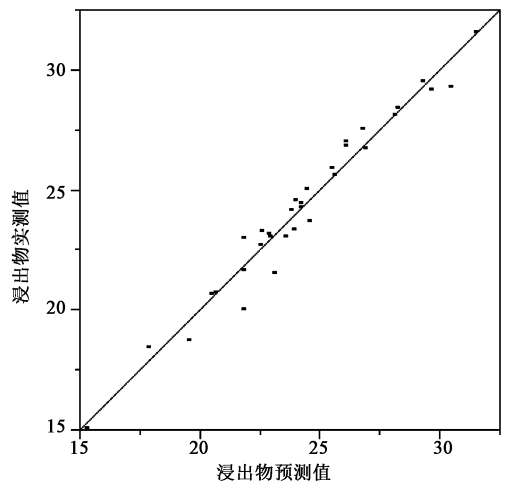
采用 PLS 建模时, 主因子数的选择由体系中被

表 2 不同光谱数据及波长区间对  $R^2$  和 RMSE 的影响

建模光谱	区间编号	波长区间 /nm	主因子数	RMSE	$R^2$
原始	1	全谱	4	1.860 7	0.743 8
吸收光谱	2	215 ~ 240	4	2.278 7	0.615 7
	3	250 ~ 291	5	2.106 5	0.671 6
	4	374 ~ 400	5	2.110 9	0.670 2
	5	区间 2 + 3 + 4	5	1.912 0	0.729 4
	紫外一阶导数光谱	1	全谱	11	1.146 5
2		209 ~ 233	5	2.101 9	0.673 0
3		258 ~ 278	6	1.487 1	0.836 3
4		283 ~ 342	6	1.967 0	0.713 6
5		区间 2 + 3 + 4	11	1.100 2	0.910 4

测物质的交互作用和基体效应决定。因此, 选取时既要获得较好的校正效果, 又要避免拟合不足与过度拟合。本试验选用交叉验证得到的预测 RMSE 值来确定主因子数。

**4.3 校正模型的建立及优化** 运用 SAS JMP Statistical Discovery V9.0.2 统计分析大师中偏最小二乘法建立校正模型, 布渣叶浸出物含量选择紫外一阶导数光谱的 3 个波长区间 209 ~ 233, 258 ~ 278, 283 ~ 342 nm 进行建模。在建模过程中, 用校正集样品进行内部交叉验证, 确定主因子数为 11, 并根据残差值剔除掉异常点, 这些异常点可能是由于试验误差等原因所造成的, 经剔除异常点后再重新建模, 以对模型进行优化处理, 如图 4 所示。优化处理后,  $RMSE = 0.693 1$ ,  $R^2 = 0.964 1$ , 模型性能明显优于优化前。



(优化处理: 去掉编号 14, 21, 39 样品数据后重新建模)

图 4 校正集浸出物含量预测值与真实值的相关性

**4.4 模型的验证** PLS 校正模型必须具备良好的预测性能方可投入实际应用, 依据上述所建的校正模型, 对验证样品集中的 10 个样品进行预测, 来检验其校正模型的准确性。图 5 为验证集样品中浸出物含量预测值与参考值的相关图, 从图中可以看出, 样品中浸出物含量预测值与参考值之间的偏差较小, 预测值与参考值比较吻合, 预测值的平均相对偏差分别为 1.73%, 结果表明上述所建布渣叶浸出物含量 UV 定量校正模型的预测能力较好。

**4.5 精密度试验** 从验证集样本中选择 3 个不同含量范围的样品 (S8, S17, S37), 分别连续测定 6 次, 用所建模型预测其浸出物的含量。结果, 3 个样品浸出物含量 RSD 分别为 1.73%, 1.91%, 1.65%。

**4.6 重复性试验** 从验证集样本中选择 3 个不同含量范围的样品 (S8, S17, S37), 每个样品分别取 6

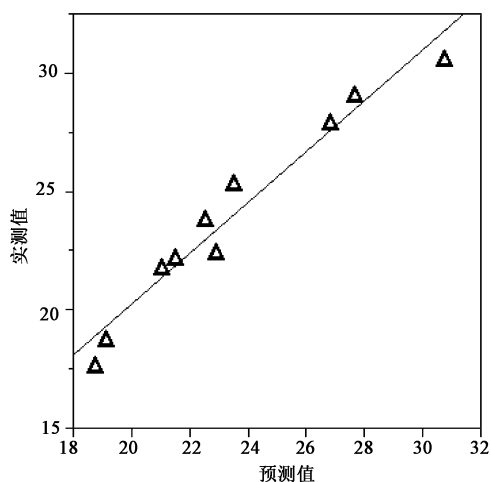


图5 验证集浸出物含量预测值与参考值的相关性

份,采集紫外光谱,并用所建模型预测其浸出物的含量。结果浸出物含量 RSD 分别为 2.91%, 2.68%, 2.82%。

## 5 讨论

偏最小二乘法具有较强的信息提取能力,是化学计量学中最受推崇的多元校正方法。该法同时将校正浓度矩阵和相应的响应信号矩阵进行主成分分解并以因子回归。因此,偏最小二乘法能够较好地解决相似组分波谱相关而引起的共线性问题,避免了矩阵求逆过程中产生的误差,特别适合用于多组分体系的同时分析、定量构效关系、以及过程建模和监控等研究。

布渣叶浸出物主要含有黄酮类化合物,具有较好的紫外吸收。因此,将紫外分光光度法与偏最小二乘法结合,不仅能分辨重叠光谱,消除背景干扰,而且能准确地构建布渣叶浸出物与其紫外光谱的定量校正模型。

运用本试验所建立的 UV 校正模型测定 6 份样品(S31)中浸出物含量所花费的时间约为 1 h。如果按照国家或行业规定的标准测试方法,测定上述 6 份布渣叶样品中浸出物含量,至少需要 10~12 h,说明 UV-PLS 的确具有分析速度快、效率高的特点,适用于制药过程中布渣叶药材的快速质量控制。

本试验运用偏最小二乘法(PLS)建立布渣叶药材紫外光谱(UV)与其浸出物含量测定值之间的多元校正模型,对验证集样品进行预测,预测结果表明,该法较准确地预测样品中浸出物的含量。UV-PLS 法具有分析速度快、预测结果准确等优点,可用于布渣叶中浸出物的快速测定。

在紫外光谱分析中,校正模型需要不断地维护和修正,以保证其准确性和通用性。模型的通用性

体现了模型的转移能力。为了确保模型能够从一台仪器成功转移到其他同型号仪器,必须保证仪器硬件光学系统的质量和标准化。实验操作条件包括环境因素、光谱采集参数、仪器和样品状态等的标准化和一致性也会直接影响模型的转移能力。在实际分析工作中,可以使用化学计量学方法修正多种偏差。

## 【参考文献】

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部[S]. 北京:中国医药科技出版社,2010:88.
- [2] 广东省食品药品监督管理局. 广东省中药材标准. 第一册[S]. 广州:广东科技出版社,2004:66.
- [3] 江苏新医学院编. 中药大词典. 下册[M]. 上海:上海科技出版社,1986:1824.
- [4] 《中药商品知识》编写组. 中药商品知识. 中册[M]. 广州:广东科技出版社,1989:129.
- [5] 陆婉珍. 现代近红外光谱分析技术[M]. 北京:中国石化出版社,2006:174.
- [6] 陈宁宁,解健博. 紫外分光光度法同时测定增效黄连素胶囊中二组分含量[J]. 沈阳药学院学报,1994,11(3):168.
- [7] 陈俐娟. PLS 紫外分光光度法同时测定复方阿斯匹林三组分含量的研究[J]. 化学研究与应用,1999,11(6):701.
- [8] 高晓燕,李娜,范强,等. 清开灵注射液生产过程中金银花提取液的在线质量控制方法研究[J]. 光谱学与光谱分析,2006,26(5):904.
- [9] 高晓燕,李娜,王耘,等. 清开灵注射液生产过程中栀子提取液快速质量检测[J]. 药物分析杂志,2006,26(3):336.
- [10] 葛成相,倪永年. 多元校正-吸光光度法同时测定药物中的甲硝唑和芬布芬及酮洛芬[J]. 南昌大学学报:理科版,2006,30(3):254.
- [11] 张国文,潘军辉,阙青民. 偏最小二乘-分光光度法同时测定福美锌和代森锰农药残留量[J]. 分析试验室,2006,25(11):27.
- [12] 李娜,高晓燕,范强,等. 金银花提取液中绿原酸的快速定量[J]. 中国中药杂志,2007,32(4):312.
- [13] 王远,秦民坚,戚近,等. 近红外漫反射光谱法测定麦冬的多糖含量[J]. 光谱学与光谱分析,2009,29(10):2677.
- [14] 王星,游志恒,白雁. 近红外漫反射光谱法定量分析连翘药材[J]. 光散射学报,2010,22(1):56.
- [15] 万楷杨,高慧敏,张启伟,等. 近红外漫反射光谱法快速测定苦参和白土茯苓药材的水分[J]. 中国实验方剂学杂志,2011,17(10):56.
- [16] 黄敏珠,王栋,尹忠臣,等. 紫外分光光度法测定绞股蓝片中绞股蓝总苷的含量[J]. 中国中药杂志,2010,35(18):2410.

[责任编辑 顾雪竹]