

近红外光谱快速定量技术在中药分析中的最新应用进展

王耀鹏, 顾志荣, 孙宇靖, 王亚丽*
(甘肃中医学院, 兰州 730000)

[摘要] 近红外光谱技术(NIR)是一种快捷、无损的绿色分析技术,其定量分析技术尤为发展迅速。该技术先以误差小、重复性好的实验方法获得化学参考值,常用方法为《中国药典》指定的如高效液相色谱(HPLC)、气象色谱(GC)、毛细管电泳(CE)、原子吸收光谱法(AAS)及电感耦合等离子体质谱法(ICP-MS)等,再借助于偏最小二乘(PLS)、人工神经网络(ANN)等化学计量学方法建立一定的数学模型来预测中药或制剂中化学成分的含量,模型评价常用的指标有相关系数(R)、校正均方根偏差(RMSEC)、预测均方根偏差(RMSEP)及交叉验证均方差(RMSECV)等。目前,该技术在中药植物药及复方制剂中的有效成分、指标性成分、水分、浸出物及挥发油等的含量测定,矿物药中有效成分的含量测定,以及制剂工艺优选和制药过程实时监测等方面已开展广泛的应用。本文通过文献研究发现,NIR定量技术亦有许多薄弱及空白,但是随着迅速的推广,NIR定量分析技术在中药分析中具有广阔的研究与应用前景。

[关键词] 近红外光谱; 定量检测; 中药分析

[中图分类号] R282.6; R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2015)09-0223-04

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2015090223

Latest Application Progress of Rapid Quantitative Technique Based on Near Infrared Spectroscopy in Analysis of Traditional Chinese Medicine WANG Yao-peng, GU Zhi-rong, SUN Yu-jing, WANG Ya-li*
(Gansu University of Traditional Chinese Medicine, Lanzhou 730000, China)

[Abstract] Near infrared spectroscopy (NIR) is a rapid, nondestructive and green analytical technology, and its quantitative analysis technique is especially rapidly developing. Determination methods with small deviation and good repeatability designated by *Chinese Pharmacopoeia* like HPLC, GC, CE, AAS and ICP-MS were used to obtain chemical reference. Then chemometrics models like PLS and ANN were established to predict the contents of chemical compositions in herbal medicines and compound Chinese medicinal preparation. The established models were commonly evaluated by indicators of correlation coefficient (R), RMSEC (the root-mean-square error of calibration), RMSEP (the root-mean-square error of prediction) and RMSECV (the root-mean-square error of cross-validation). NIR quantitative analysis technique of has broad research and application prospects in the content determination of effective compositions, index compositions, moisture, extract and volatile oil of herbal medicines and compound Chinese medicinal preparation, effective compositions of mineral medicines, optimization of preparation technologies, and real-time monitoring of pharmaceutical process.

[Key words] Near infrared spectroscopy; quantitative determination; analysis of traditional Chinese medicine

随着国外医药市场开始接受植物药和复方药物,中药材及中成药开始在世界范围内逐渐得到一定的认同。中药的特色在于“多组分、多功效、多靶点”,然而正是这一特色给中药的现代化发展提出了一些挑战,国外医药体系对中药材

及中成药缺少全面的认同,主要原因之一在于其有效性及安全性的可视化的精确测定及科学阐释非常困难。因此,中药分析在中药的现代化与创新实践方面扮演着关键角色^[1]。在中药分析领域,单体化合物含量检测应用最多的是高效液

[收稿日期] 20140707(003)

[基金项目] 国家自然科学基金项目(30960037);甘肃省发改委战略新兴产业和产业技术研究与开发专项项目(2011);甘肃中医学院研究生创新基金项目(CX2014-06)

[第一作者] 王耀鹏,在读硕士,从事中药成分分析和质量控制研究,Tel:15095416593,E-mail:wyp94730@163.com

[通讯作者] *王亚丽,教授,博士,博士生导师,从事中药分析和化学计量学研究,E-mail:cnwyl1166@hotmail.com

相色谱(HPLC)、气相色谱(GC)及其联用技术,而挥发油、多糖、浸出物等多组分混合物的测定采用的是传统的提取称重法,这些方法的共同特点是前处理复杂、仪器操作繁琐、分析时间较长,对见光、受热、遇湿等性质不稳定的化合物检测准确度较低,易通过氧化、水解、光解和异构化等发生结构改变是许多中药有效成分的共同特点。在这一背景下,快速、无损、低廉的 NIR 定量分析技术越来越得到研究人员的青睐,目前已在农业^[2]、化工^[3]、食品^[4]及医学检验^[5]等领域得到了广泛的应用,在中药分析领域的应用研究正逐渐开展。现将近几年 NIR 快速定量技术在中药分析中的最新应用进展综述如下。

1 NIR 快速定量技术简介

近红外光是介于可见光(VIS)和中红外光(MIR)之间的电磁波,美国 ASTM(试验和材料检测协会标准)将其波长定义在 780 ~ 2 526 nm^[6]。NIR 兼备了可见区光谱分析信号容易获取与红外区光谱分析信息量丰富两方面的优点,但也具有有谱带重叠多、吸收强度低等缺点,在定量分析中必需利用化学计量学方法建立适当的数学模型,才能确定成分含量与光谱间的关系^[7-8]。

NIR 定量模型建立的主要步骤为(1)样本收集与光谱采集;(2)化学参考值测定;(3)定量校正模型建立及分析;(4)模型验证。模型建立的主要方法有多元线性回归(MLR)、逐步回归(SRA)、主成分回归(PCR)、偏最小二乘回归(PLS)等^[9]。所建模型经过验证后即可进行样品测定,此时应完全按照校正集样品的光谱采集方式采集 NIR 光谱,便可通过所建模型立即获得待测样品中目标成分的含量^[10]。

2 NIR 快速定量技术在中药材研究中的应用

2.1 植物药有效成分及指标成分的测定

中药化学成分有效部位较多,成分复杂,即使同一种药材,也可能含有大量不同类型的化学成分。在历版《中国药典》中,中药质量控制仍以单一有效成分或指标成分为主,多采用 HPLC、GC 等定量分析方法检测,而这些方法中繁琐的样品预处理会降低测定的准确度。Shao 等^[11]研究了白术的 NIR 特征并进行了二阶导数校正,在此基础上建立了 PLS 定量校正模型预测了白术内酯 I、Ⅲ的含量,交叉验证显示白术内酯 I、Ⅲ的 PLS 模型 RMSECV, R_c , R_p 分别为 0.038 7, 0.035 8, 0.966 3, 0.961 6。Li 等^[12]利用积分球漫反射法建立了黄芩中黄芩苷、汉黄芩素、黄芩黄酮和汉黄芩素的 PLS 定量校正模型,通过交叉验证选择了最优主成分数(PC),结果显示 4 个成分的校正模型 $R_c > 0.920$, 黄芩苷、汉黄芩素、黄芩黄酮及汉黄芩素的 RMSEP 分别为 0.752%, 0.094%, 0.418%, 0.139%, 说明近红外漫反射光谱法可用于黄芩的快速分析。Lau 等^[13]通过 NIR 结合 PLS 法建立了葛根中葛根素、大豆苷和总异黄酮的含量模型,实现了葛根的多指标质量控制。此外,郭昊等^[14]、李耿等^[15]及王星等^[16]分别采用近红外漫反射光谱建立了西洋参中人参皂苷单体和人参总皂苷、温郁金中吉马酮、红花中羟基红花黄色素 A 以及连翘中连翘酯苷的定量校正模型,均取得了令人满意的效果。总结上述研究发现,

NIR 快速定量技术无需进行复杂的前处理而能够直接对大量未知样品中多种化学成分进行定量测定,为中药成分的检测与分析提供了新的、有效的方法和依据。

2.2 矿物药有效成分的测定

袁明洋等^[17]采用 NIR 结合 OPUS 化学计量学软件,以乙二胺四乙酸(EDTA)滴定法测定值为参照,采用 PLS 法分别对南寒水石、炉甘石、石花、石蟹、石燕、钟乳石、鱼脑石及鹅管石 8 种矿物药中的 CaCO_3 进行了定量分析。当 CaCO_3 含量在 47.61% ~ 99.17% 时,预测结果的平均相对偏差 0.24%, 平均预测回收率 100.3%, 结果表明 NIR 定量模型可以用来快速测定矿物类中药中 CaCO_3 的含量。中药矿物药的主要有效成分多为 CaCO_3 , MgCO_3 等,多以滴定法进行定量检测,但此法误差大、操作繁琐,指示剂变色及滴定终点易受主观因素的影响,本研究的 NIR 定量技术为矿物药中类似成分的测定提供了新的思路与方法。

2.3 中药材中浸出物、挥发油及水分的测定

中药水分测定采用最多的是烘干法及甲苯法^[18],这两种方法同样存在上述问题。但 NIR 定量技术可以很好地解决上述问题。谢彩侠等^[19]采用 PLS 法建立了盾叶薯蓣醇浸出物的 NIR 定量校正模型, R_c , RMSECV, RMSEP 分别为 0.991 1, 0.010 1, 0.004 6, 该法可推广应用于中药材中醇浸出物的快速检测。李文龙等^[20]利用近红外漫反射光谱法建立了 5 个定量模型,分别用来测定黄芩、金银花、连翘、山羊角及熊胆粉中的水分含量,结果表明所建的 5 个模型中验证集水分含量的预测值与实测值的 R_c 均 > 0.90 , RMSEP 均在 0.05 以下。该研究对象包括了植物药与动物药,植物药又包括了根皮、根茎、花及花蕾等部位,因此可以作为近红外漫反射光谱法测定中药提取物中水分含量的一般规律推广应用,该法最大优点在于能够有效避免测定过程中样品返潮所带来的误差。Li 等^[21]基于 NIR 定量模型测定红花挥发油中的新绿原酸及绿原酸、咖啡酸, 3,4-二咖啡酰奎宁酸, 3,5-二咖啡酰奎宁酸, 4,5-咖啡酰奎宁酸, 外部验证 RMSEP 分别是 0.169%, 0.048%, 0.172%, 0.007%, 0.203%, 0.066%, 表明建立的模型具有令人满意的预测能力。由于 NIR 可以反映挥发油成分的综合信息,因此该技术具有较好的可移植性,有助于含挥发油中药的质量控制。

2.4 中药材中重金属、农药残留及杂质的测定

刘燕德等^[22]建立了基于近红外漫反射光谱技术快速检测丁香蓼叶片中重金属 Cu 含量的方法,定量模型的 R_c , RMSEC, R_p , RMSEP 分别为 0.950, 5.99, 0.923, 7.38。此项研究表明, NIR 定量技术用于中药重金属含量的快速检测具有可行性。代芬等^[23]采集了龙眼肉 500 ~ 1 000 nm 的 NIR 数据,利用 3 层的 BP-ANN(反向传播-人工神经网络)模型对其表面的农药残留进行了分析。结果表明,该模型对敌百虫及敌敌畏残留的检测正确率分别为 93%, 80%。此外,马群等^[24]采用 NIR 定量技术测定了天然牛黄粉中人工牛黄的掺入量,胡刚亮等^[26]采用 NIR 定量技术测定了川贝母中浙贝母的掺入量。这些研究均可以避免传统外观鉴定的主观人为误差,其

最大的优点在于实现了中药中杂质的快速定量分析。

3 NIR 快速定量技术在中药制剂分析及制药工程中的应用

3.1 中药制剂质量控制成分的测定 Li 等^[26]运用 NIR 快速定量技术实现了痰热清注射液中黄芩苷、绿原酸、熊去氧胆酸、鹅去氧胆酸和总固体含量的快速测定,试验精密度和重复性均满足要求。此法对中药制剂的多指标综合评价分析具有重要意义。杜敏等^[27]以清开灵注射液为研究对象,采用 PLS 法建立了黄芩苷的定量模型, R_c , RMSEC, R_p , RMSEP 分别为 0.989, 0.16, 0.993, 0.12。苏碧茹等^[28]、尹震等^[29-31]均以 HPLC 分析值作为参照,分别采用近红外漫反射光谱技术建立了消渴丸药粉、消渴丸浓缩液、消渴丸干模丸的 PLS 定量模型,均取得了较好的效果。Wai 等^[32]研究了快速和非侵入的 NIR 测定甘露醇冻干粉中水分的方法,他们发现了基于主要成分的主成分回归和交互的新方法,与传统的 PLS 方法相比,含水率的预测能力显著增加。

3.2 制剂工艺及制剂过程实时监测 在国外已应用于制药行业的过程控制及质量监测,但在国内尚未广泛应用^[33]。Wu 等^[34]提出了一种新方法实现了中药微量有效成分的在线监测。该研究以金银花为例,采用多元检测限制(MDL)及在线 NIR 建立了 PLS 和 iPLS(区间偏最小二乘)多元校正模型。结果显示,改进的 iPLS 模型 RMSEP 从 0.111 减少到 0.068, R_c 从 0.943 4 增加到 0.980 1, 该研究表明在线 NIR 有能力检测金银花中微量的绿原酸。刘桦等^[35]以 HPLC 测定的数据为化学参考值,利用 NIR 技术建立了可在线监测人参叶中人参皂苷 R_g , R_e , R_b , 及人参总皂苷的大孔树脂分离纯化工艺,该法快速、简便、准确,可用于生产过程中人参总皂苷的含量测定和质量控制。丁海樱等^[36]利用微型近红外仪建立了基于近红外漫反射光谱法的中药粉末混合过程的快速定量分析模型,实现了不同配比的赤芍和脱脂酸枣仁粉末混合过程的在线检测。该方法可用于在线检测混合过程中不同种类粉末的成分的含量和混合均匀度,判断混合终点,评价粉末的物理状态是否符合生产标准,真正将过程分析技术(PAT)应用于中药混合过程,并有望实现在线质量控制。Wu 等^[37]、Yang 等^[38]利用 NIR 定量技术分别实现了红参及三七提取过程中有效成分含量的实时变化在线检测。

4 小结与展望

通过文献研究发现,NIR 定量分析技术在中药分析中的应用研究方兴未艾,研究及应用空间较大,研究对象的范围呈扩大之势。当前,NIR 定量分析技术正在从传统的植物药及中药复方中个别有效成分或指标性成分的定量检测向矿物药检测、中药提取及制剂过程实时监测发展,且检测对象正在向多质量控制指标及安全性检测指标发展。这一技术对中药原材料的质量控制及中药制药过程的实时监控均有独特的优势,且已被大量研究所证明。但其技术优势远不止这些,目前,在农业、食品工业、矿业及地球科学等领域已有便携式、智能化的 NIR 定量分析仪器面世^[39]。研究也发现,目前研究尚存在许多薄弱及空白之处,主要表现为①在中药提取、分离及制剂的工艺控制方面研究不足;②在中药生产、

资源开发方面以及农药残留、重金属等快速检测方面研究薄弱;③在中药加工、炮制及储藏过程的质量控制中的应用尚属空白;④在动物药相关研究中的应用尚属空白;⑤目前尚未开发出中药质量分析相关 NIR 定量技术产品。对于这些中药分析研究的难点领域,NIR 定量技术有着广阔的研究与应用前景,应当作为今后研究的主要方向。

[参考文献]

- [1] 夏建飞, 梁琼麟, 罗国安. 现代中药分析新进展 [J]. 中国科学: 化学, 2010, 40(6): 641-650.
- [2] Zhang S J, Zhang H H, Zhao Y R, et al. A simple identification model for subtle bruises on the fresh jujube based on NIR spectroscopy [J]. Math Comp Model, 2013, 58(3/4): 545-550.
- [3] Mariana S Godinho, Marcos R Blanco, Francisco F Gambarra Neto, et al. Evaluation of transformer insulating oil quality using NIR, fluorescence, and NMR spectroscopic data fusion [J]. Talanta, 2014, 129(1): 143-149.
- [4] Fernández Pierna J A, Vermeulen P, Amand O, et al. NIR hyperspectral imaging spectroscopy and chemometrics for the detection of undesirable substances in food and feed [J]. Chemometr Intell Lab, 2012, 117(1): 233-239.
- [5] Afara I O, Singh S, Oloyede A. Load-unloading response of intact and artificially degraded articular cartilage correlated with near infrared (NIR) absorption spectra [J]. J Mechanical Behavior Biomed Mat, 2013, 20: 249-258.
- [6] 梁静波, 苏毅, 谢希贤, 等. 基于近红外技术快速检测棉籽饼粉水解液中氨基氮含量 [J]. 食品与发酵工业, 2014, 40(1): 187-192.
- [7] 杨阳, 代涛, 汪学楷, 等. 胆酸含量的近红外分析数学模型 [J]. 化学研究与应用, 2011, 23(2): 204-207.
- [8] Xu B L, Zhang G J, Sun S Q, et al. Rapid discrimination of three kinds of Radix Puerariae and their extracts by Fourier transform infrared spectroscopy and two-dimensional correlation infrared spectroscopy [N]. J Mol Struc, 2012, 1018(27): 88-95.
- [9] 褚小立. 化学计量学方法与分子光谱分析技术 [M]. 北京: 化学工业出版社, 2011.
- [10] 陆婉珍. 现代近红外光谱分析技术 [M]. 2 版. 北京: 中国石化出版社, 2006.
- [11] Shao Q S, Zhang A L, Ye W W, et al. Fast determination of two atractylenolides in Rhizoma Atractylodis Macrocephalae by Fourier transform near-infrared spectroscopy with partial least squares [N]. Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy, 2014, 120(24): 499-504.

- [12] Li W L, Xing L H, Cai Y, et al. Classification and quantification analysis of Radix Scutellariae from different origins with near infrared diffuse reflection spectroscopy [J]. *Vib Spectrosc*, 2011, 55 (1): 58-64.
- [13] Lau C C, Chan C O, Chau F T. Rapid analysis of radix puerariae by near infrared spectroscopy [J]. *Near-infrared Spec*, 2006, 14(1): 45-50.
- [14] 郭昊, 杜伟锋, 蔡宝昌, 等. 近红外光谱法测定温郁金中吉马酮含量 [J]. *中国新药杂志*, 2013, 22 (13): 1582-1586.
- [15] 李耿, 高海燕, 陈旭, 等. 近红外光谱法快速测定红花中羟基红花黄色素 A [J]. *中成药*, 2013, 35(7): 1579-1582.
- [16] 王星, 白雁, 陈志红, 等. 近红外光谱法测定连翘中连翘酯苷含量 [J]. *中国中药杂志*, 2009, 34(16): 2071-2075.
- [17] 袁明洋, 黄必胜, 余驰, 等. 8种含碳酸盐的矿物类中药近红外定性定量模型的建立 [J]. *中国中药杂志*, 2014, 39(2): 267-272.
- [18] 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; 附录 52.
- [19] 谢彩侠, 左春芳, 雷敬卫, 等. 近红外漫反射光谱法快速测定盾叶薯蓣药材醇浸出物的含量 [J]. *中国现代应用药学*, 2012, 29(10): 932-935.
- [20] 李文龙, 徐金钟, 刘绍勇, 等. 近红外漫反射光谱法测定5种中药提取物中水分含量的研究 [J]. *药物分析杂志*, 2009, 29(10): 1602-1606.
- [21] Li W L, Cheng Z W, Wang Y Y, et al. Quality control of *Lonicerae Japonicae Flos* using near infrared spectroscopy and chemometrics [J]. *J Pharmaceut Biomed Analy*, 2013, 72: 33-39.
- [22] 刘燕德, 施宇, 蔡丽君. 基于近红外漫反射光谱的丁香蓼叶片重金属铜含量快速检测研究 [J]. *光谱学与光谱分析*, 2012, 32(12): 3220-3224.
- [23] 代芬, 张昆, 洪添胜, 等. 龙眼表面农药残留的无损检测研究-基于近红外光谱分析 [J]. *农机化研究*, 2010, 32(10): 111-114.
- [24] 马群, 郝贵奇, 乔延江. 近红外漫反射光谱法结合支持向量机测定天然牛黄粉中人工牛黄的掺入量 [J]. *光谱学与光谱分析*, 2006, 26(10): 1842-1845.
- [25] 胡刚亮, 陈瑞珍, 程柯, 等. 近红外漫反射光谱快速检测川贝母中浙贝母的掺入量 [J]. *药物分析杂志*, 2005, 25(2): 150-152.
- [26] Li W L, Cheng Z W, Wang Y F, et al. A study on the use of near-infrared spectroscopy for the rapid quantification of major compounds in Tanreqing injection [J]. *Spectrochim Acta A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 2013, 101(15): 1-7.
- [27] 杜敏, 吴志生, 林兆洲, 等. 光程对清开灵注射液中药芩苈近红外定量模型的影响 [J]. *药物分析杂志*, 2012, 32(10): 1796-1800.
- [28] 苏碧茹, 叶彬, 耿春贤, 等. 近红外光谱法快速测定消渴丸药粉中葛根素含量 [J]. *中国中药杂志*, 2011, 36(6): 672-675.
- [29] 尹震, 石猛, 刘燕鹏, 等. 近红外光谱法快速测定消渴丸浓缩液的干固物含量 [J]. *中药材*, 2012, 35(6): 989-991.
- [30] 石猛, 尹震, 孙幸, 等. 近红外光谱法快速测定消渴丸干模丸中葛根素含量 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2012, 18(22): 88-90.
- [31] 石猛, 耿春贤, 叶彬, 等. 近红外光谱法快速测定消渴丸浓缩液中葛根素含量 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2011, 17(11): 48-51.
- [32] Wai L Y, Ingvil G, Sverre A S, et al. Strategies for multivariate modeling of moisture content in freeze-dried mannitol-containing products by near-infrared spectroscopy [J]. *J Pharmaceut Biomed*, 2012, 70: 202-211.
- [33] 汪小莉, 李嫒, 秦昆明, 等. 近红外光谱学与化学计量学在中成药液体剂型过程分析中的应用 [J]. *中草药*, 2013, 44(5): 2165-2170.
- [34] Wu Z H, Sui C L, Xu B, et al. Multivariate detection limits of on-line NIR model for extraction process of chlorogenic acid from *Lonicera japonica* [J]. *J Pharmaceut Biomed*, 2013, 77: 16-20.
- [35] 刘桦, 赵鑫, 齐天, 等. 人参叶总皂苷大孔树脂分离纯化工艺的红外光谱在线监测模型及其含量测定 [J]. *光谱学与光谱分析*, 2013, 33(12): 23226-23230.
- [36] 丁海樱, 金叶, 刘雪松, 等. 中药粉末混合过程近红外在线检测研究 [J]. *中国药学杂志*, 2013, 48(14): 1151-1156.
- [37] Wu Y J, Jin Y, Li Y R, et al. NIR spectroscopy as a process analytical technology tool for online and real-time monitoring of an extraction process [J]. *Vib Spectrosc*, 2012, 58: 109-118.
- [38] Yang N L, Cheng Y Y, Wu Y J. A new method for fast and nondestructive analysis of saponins in *Panax notoginseng* herb by near infrared spectroscopy [J]. *Acta Chim Sinica*, 2003, 61(3): 393-397.
- [39] 陈雪源, 曾南石, 曾妮萍, 等. 便携式近红外光谱仪的粘土样品鉴定及应用研究 [J]. *矿物学报*, 2013, (增刊): 1006-1007.

[责任编辑 顾雪竹]