

近红外光谱法快速测定河南产野菊花中蒙花苷含量

呼海涛, 胡小莉, 白雁, 雷敬卫*, 张迪文, 郝敏
(河南中医药大学, 郑州 450046)

[摘要] **目的:**运用近红外漫反射光谱技术(NIRS)结合偏最小二乘法(PLS)建立野菊花药材中蒙花苷含量的快速测定方法。**方法:**采集野菊花药材的近红外漫反射光谱,采用 HPLC 测定野菊花药材中蒙花苷含量作为参考值,将近红外光谱与蒙花苷含量参考值进行关联,建立野菊花药材中蒙花苷含量的定量预测模型,并对模型进行验证。**结果:**所建立的定量分析模型的内部交叉验证决定系数(R^2)为 0.999 09,校正均方根偏差(RMSEC)为 0.013 6,内部交叉验证均方差(RMSECV)为 0.039 70,验证集样品预测相关系数(r)为 0.997 6,预测均方偏差(RMSEP)为 0.018 5。**结论:**近红外光谱法操作简便,测定快速准确,可以用于河南产野菊花药材中蒙花苷含量的快速测定。

[关键词] 近红外光谱技术; 野菊花; 蒙花苷; 快速测定

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2016)08-0074-04

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2016080074

Rapid Determination of Buddleoside in Chrysanthemi Indici Flos of Henan Province by Near Infrared Spectroscopy

HU Hai-tao, HU Xiao-li, BAI Yan, LEI Jing-wei*, ZHANG Di-wen, HAO Min
(Henan University of Traditional Chinese Medicine, Zhengzhou 450046, China)

[Abstract] **Objective:** To establish a method for rapid determination of the content of buddleoside in Chrysanthemi Indici Flos by Near Infrared Spectroscopy (NIRS) and partial least square (PLS). **Method:** The near infrared spectra of Chrysanthemi Indici Flos were collected. With the content of buddleoside determined by HPLC method as a reference value, the NIR spectra were then associated with the reference values to establish the quantitative prediction model of buddleoside in Chrysanthemi Indici Flos. Finally, the model was verified by unknown samples. **Result:** The correlation coefficients (R^2) of the quantitative analysis model was 0.999 09; the root mean square error of calibration (RMSEC) was 0.013 6; the root mean square error of cross validation (RMSECV) was 0.039 70; the correlation coefficients of predication (r) and the root mean square error of predication (RMSEP) was 0.997 6 and 0.018 5 respectively. **Conclusion:** This method of near infrared spectroscopy is simple, fast and accurate, and could be used for the rapid determination of the content of the buddleoside in Chrysanthemi Indici Flos of Henan province.

[Key words] near infrared spectroscopy; Chrysanthemi Indici Flos; buddleoside; rapid determination

野菊花为秋冬二季花初开放时采摘,晒干或蒸后晒干^[1]。现代药理研究表明野菊花具有广泛的药用价值,包括抗微生物、抗炎、免疫调节、保护心血

管等作用,且具有高效、低毒的特点,有较好的临床应用价值和研发潜力。

野菊花中蒙花苷的提取耗时长,需要消耗大量

[收稿日期] 20150527(004)

[基金项目] 河南省工程技术中心项目(142102313109);河南省属高校科研业务费专项自主创新项目(2014KYYWF-ZZCX3-08);河南省博士后科研项目

[第一作者] 呼海涛,硕士,副教授,从事中药学研究,Tel:13598803663,E-mail:13598803663@139.com

[通讯作者] *雷敬卫,博士,副教授,从事中药质量控制研究,Tel:0371-65962967,E-mail:249432564@qq.com

有机试剂^[1]。近红外光谱分析技术是一种快速无损的绿色分析技术,目前已陆续应用于中药材的定量分析^[2-3]和药材的快速识别^[4],以及中药生产过程中的在线监测^[5]等。本研究以河南产野菊花为研究对象,将近红外光谱分析技术(NIRS)应用于野菊花中蒙花苷的测定,用近红外漫反射光谱技术结合偏最小二乘法建立了野菊花药材中蒙花苷的定量分析模型,为野菊花中指标性成分的含量测定提供了新方法。

1 材料

1.1 仪器 6700 型近红外光谱仪(配有 InGaAs 检测器,50 mL 标准石英杯,OMNIC 光谱采集软件,TQ Analyst 8.0 分析软件,美国 Thermo Nicolet 公司),1260 系列高效液相色谱仪(美国 Agilent 公司),AL204 型 1/1 万及 H54AR 型 1/10 万天平(瑞士 Mettler 公司)。

1.2 试药 99 份野菊花样品分别采自河南不同产区,其中 1~15 号样品采自河南新郑,16~39 号样品采自河南三门峡,40~99 号样品采自河南信阳,经河南中医药大学陈随清教授鉴定均为野菊 *Chrysanthemum indicum* 的干燥头状花序。蒙花苷对照品(批号 MUST-14021203,纯度 $\geq 98\%$)购自成都曼思特生物科技有限公司。

2 方法与结果

2.1 近红外光谱的采集 99 份野菊花样品,直接晒干,粉碎,过 40 目药典标准筛。测样方式积分球漫反射,分辨率 8 cm^{-1} ,扫描次数 64 次,扫描范围 $12\ 000\sim 4\ 000\text{ cm}^{-1}$,温度 $18\sim 25\text{ }^\circ\text{C}$,相对湿度 35% 。将收集到的菊花样品粉末取约 8 g,放入石英样品杯中,混合均匀,以空气为参比,扣除背景采集光谱图,按上述试验条件进行扫描,每个样品重复扫描 3 次,求平均光谱。99 份野菊花样品的近红外原始光谱叠加见图 1。

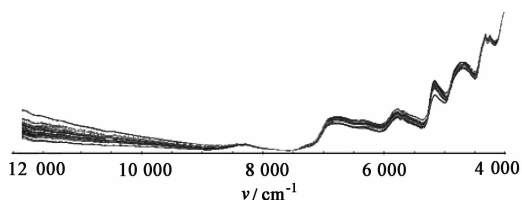
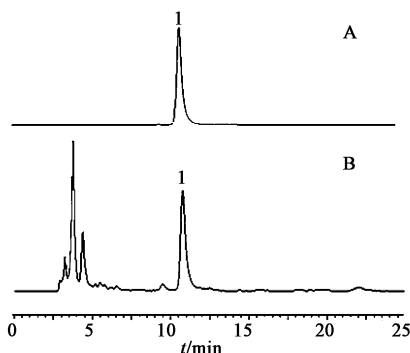


图 1 99 份野菊花样品的 NIR 原始光谱叠加
Fig.1 NIRS spectra of 99 Chrysanthemum samples

2.2 蒙花苷含量参考值的测定 按照 2010 年版《中国药典》野菊花项下蒙花苷含量测定方法对野菊花中蒙花苷含量进行测定。HPLC 色谱见图 2,99 份野菊花样品的蒙花苷含量见表 1。



A. 对照品;B. 野菊花样品;1. 蒙花苷
图 2 野菊花样品 HPLC
Fig.2 HPLC of Chrysanthemum sample

表 1 99 份野菊花样品蒙花苷含量

Table 1 Content of buddleoside in 99 Chrysanthemum samples %

No.	蒙花苷	No.	蒙花苷	No.	蒙花苷	No.	蒙花苷
1	0.369	26	0.744	51	1.080	76	1.250
2	0.383	27	0.724	52	1.100	77	1.260
3	0.338	28	0.744	53	1.080	78	1.240
4	0.335	29	0.738	54	1.070	79	1.230
5	0.387	30	0.762	55	1.090	80	1.200
6	0.333	31	0.756	56	1.090	81	1.190
7	0.366	32	0.653	57	1.090	82	1.200
8	0.379	33	0.640	58	1.080	83	1.220
9	0.411	34	0.649	59	1.100	84	1.220
10	0.354	35	0.651	60	1.220	85	1.180
11	0.359	36	0.645	61	1.210	86	1.180
12	0.319	37	0.644	62	1.200	87	1.120
13	0.342	38	0.646	63	1.230	88	1.120
14	0.374	39	0.627	64	1.230	89	1.120
15	0.375	40	1.050	65	1.140	90	1.130
16	0.627	41	1.050	66	1.220	91	1.110
17	0.614	42	1.130	67	1.260	92	1.140
18	0.627	43	1.140	68	1.210	93	1.150
19	0.632	44	1.140	69	1.190	94	1.130
20	0.632	45	1.080	70	1.220	95	1.150
21	0.624	46	1.010	71	1.220	96	1.160
22	0.637	47	1.080	72	1.180	97	1.160
23	0.626	48	1.080	73	1.240	98	1.160
24	0.738	49	1.080	74	1.250	99	1.130
25	0.730	50	1.150	75	1.240		

2.3 野菊花药材中蒙花苷定量分析模型的建立

2.3.1 校正集和验证集样品的选择 从 99 份野菊花样品中,根据野菊花蒙花苷含量的分布范围,选择其中 78 个有代表性的样品组成校正集,其余 21 个样品为验证集,使验证集含量范围处在校正集样品含量范围之内^[6]。校正集和验证集样品的蒙花苷含量分布见表 2。

2.3.2 光谱预处理方法的选择 近红外光谱的采集容易受颜色、样品颗粒大小等影响,导致近红外光谱的基线飘移,因此必须对原始光谱进行预处理^[7]。使

表 2 校正集与验证集样品蒙花苷含量分布范围

Table 2 Sample distribution of calibration set and validation set %

样品	样品量	最大值	最小值	平均值
校正集	78	1.26	0.319	0.909
验证集	21	1.25	0.342	0.952

用不同预处理方法后,对校正集内部交叉验证相关

表 3 不同预处理方法对定量模型性能的影响

Table 3 Influence of different pretreatment methods on performance of quantitative model

光谱预处理方法	R^2	RMSECV	RMSEC	RMSEP	PI
Constant(无)	0.998 51	0.032 93	0.017 4	0.021 2	91.8
SNV(标准归一化)	0.998 91	0.026 20	0.014 9	0.026 0	90.0
MSC(多元散射校正)	0.992 14	0.048 03	0.039 9	0.036 3	86.0
SNV + 1st Der + SG	0.999 09	0.042 20	0.016 6	0.020 0	92.3
MSC + 1st Der + SG	0.998 63	0.039 70	0.013 6	0.018 5	92.8
MSC + 2nd Der + ND	0.999 26	0.031 21	0.012 2	0.025 9	90.0

2.3.3 建模波段的选择 在建立模型时需要不断选择合适的特征波段,以提高模型的准确性。以 R^2 和 RMSECV 为评价指标,对不同建模波段结果进行比较,结果见表 4。由表可知,在 4 007.35 ~ 6 651.10 cm^{-1} , R^2 最接近 1, RMSECV 最小,故选择此波段为最佳建模波段。

表 4 不同光谱范围对 R^2 和 RMSECV 的影响

Table 4 Influence of different spectral ranges on R^2 and RMSECV

光谱范围/ cm^{-1}	R^2	RMSECV
4 008.11 ~ 11 049.85	0.998 52	0.053 03
4 008.11 ~ 7 601.01	0.998 63	0.043 26
5 006.30 ~ 8 651.10	0.995 92	0.050 88
4 007.35 ~ 6 651.10	0.999 09	0.039 70

2.3.4 主成分数的选择 主成分数的选择影响近红外定量分析模型的稳定性和预测性。定量分析模型以校正集样品的 RMSECV 为评价指标,当 RMSECV 最小时,所选主成分数最佳。本研究中定量分析模型的主成分数是 10 时, RMSECV 为最小值 0.292 01,见图 3。

2.4 定量分析模型的建立 采用偏最小二乘法(PLS),运用 MSC + 1st Der + SG 光谱预处理方法对图谱进行预处理,在 4 007.35 ~ 6 651.10 cm^{-1} 采用 10 个主成分数建立定量分析模型。所建立模型的 R^2 , RMSEC, RMSEP 分别为 0.999 09, 0.013 6, 0.018 5。蒙花苷含量的 NIR 预测值与 HPLC 参考值的相关见图 4, 偏差见图 5, 从图中可以看出预测

系数(R^2)、内部交叉验证均方差(RMSECV)、校正均方差(RMSEC)、验证集预测均方差(RMSEP)以及性能指数(PI)进行比较。其中 R^2 越接近 1, RMSEC 和 RMSEP 越小越好, PI 以相对残差和计算,越接近 100 越好^[8]。由结果可以看出, MSC + 1st Der + SG 光谱预处理方法效果最好,见表 3。

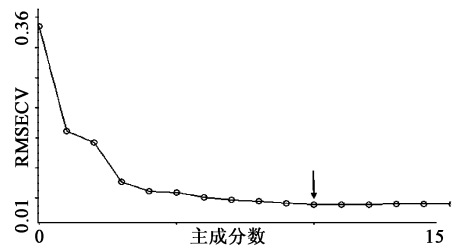


图 3 RMSECV 随主成分数的变化

Fig. 3 RMSECV changed with the change of principal component

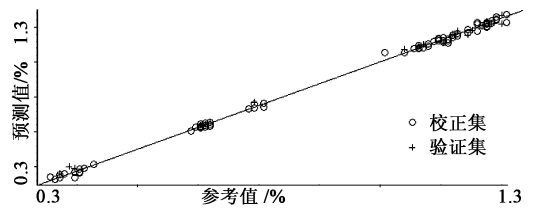


图 4 NIR 预测值与参考值的相关

Fig. 4 Correlation plot of NIR predicted values and reference values

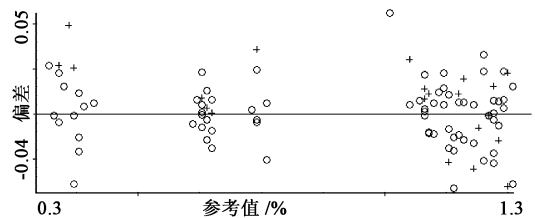


图 5 NIR 预测值与参考值的偏差

Fig. 5 Deviation plot of NIR predicted values and reference values

值与参考值接近,模型预测性能良好。

2.5 定量分析模型的验证 将 21 份验证集样品的 NIR 图谱输入定量分析模型,预测其中蒙花苷含量,结果见表 5,经验证,21 份验证集样品的 NIR 预测

值与 HPLC 法的参考值比较接近,可以看出定量分析模型的预测准确度较高。

表 5 验证集样品的 NIR 预测值与 HPLC 参考值

Table 5 NIR predicted values and HPLC reference values of validation set

No.	参考值	预测值
4	0.335	0.369
11	0.359	0.400
14	0.374	0.367
19	0.632	0.650
29	0.738	0.758
33	0.640	0.641
35	0.651	0.662
41	1.050	1.070
42	1.130	1.110
45	1.080	1.090
51	1.080	1.100
55	1.090	1.090
61	1.210	1.210
64	1.230	1.230
66	1.220	1.230
69	1.190	1.170
74	1.250	1.220
76	1.250	1.230
86	1.180	1.170
93	1.150	1.160
98	1.160	1.170

2.6 相关性分析 将 21 份验证集样品的预测值和参考值做相关性分析,预测相关系数 r 为 0.997 6, RMSEP 为 0.018 5,相关性较高,预测值与参考值比较吻合,该定量分析模型预测能力良好。结果见图 6。

3 讨论

近红外光谱法分析速度快,无化学污染等优点可以弥补传统化学分析方法的不足。本试验以河南 3 个不同产区的野菊花为研究对象,采用 HPLC 结合近红外光谱技术对野菊花中蒙花苷含量进行定量分析,建立了近红外光谱法快速测定野菊花中蒙花苷的定量分析模型,该方法快速、准确,可用于野菊花中蒙花苷含量的快速测定。

建立近红外模型必须选用大量的有代表性的样

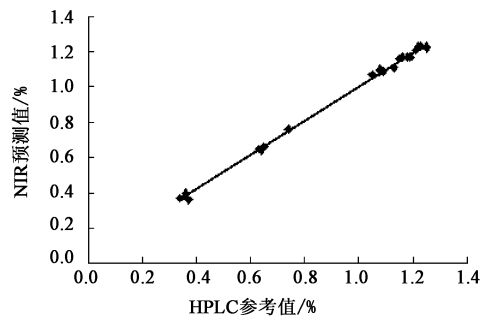


图 6 验证集样品 NIR 预测值与 HPLC 参考值相关性

Fig. 6 Correlation plot of NIR predicted values and HPLC reference values of validation set

品^[9],本试验采集的野菊花样品蒙花苷含量范围较宽,能够实现其覆盖范围内的大批量样品的快速检测,但试验对象均采集自河南省内,为了扩大模型的适用性,还应该采集全国不同产地的野菊花样品,以充实并完善此定量分析模型。

[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,2010:295.

[2] 雷敬卫,段小彦,白雁,等. 近红外光谱法快速测定老翘醇浸出物的含量[J]. 中国医药工业杂志,2014,45(3):273-275.

[3] 白雁,樊明月,雷敬卫,等. 近红外漫反射光谱法快速测定枳实药材中醇浸出物的含量[J]. 中国实验方剂学杂志,2015,21(1):73-76.

[4] 史会齐,白雁,龚海燕,等. 近红外漫反射光谱法快速鉴别不同厂家的六味地黄丸[J]. 实验技术与管理,2011,28(10):34-37.

[5] 丁海樱,金叶,刘雪松,等. 中药粉末混合过程近红外在线监测研究[J]. 中国药学杂志,2013,48(14):1151-1156.

[6] 李家春,萧伟,孙兰,等. 基于近红外光谱的白芍药材快速分析[J]. 中国实验方剂学杂志,2012,18(6):57-60.

[7] 吴利敏,杨琼,周尚,等. 近红外光谱法快速测定虎杖中虎杖苷、白蒺藜醇、大黄的含量[J]. 药物分析杂志,2012,32(9):1583-1588.

[8] 白雁,段小彦,雷敬卫,等. 近红外漫反射光谱法在青翘含量测定中的应用[J]. 中国实验方剂学杂志,2013,19(23):111-114.

[9] 雷敬卫,李小庆,白雁,等. 近红外光谱法快速测定逍遥丸(浓缩丸)中水分含量[J]. 中国实验方剂学杂志,2013,19(19):132-135.

[责任编辑 顾雪竹]