

# 近红外光谱法快速检测玉竹酒基提取液中多糖的含量

樊玲玲<sup>1,2</sup>, 张雯雯<sup>1,2</sup>, 丛晓东<sup>1,2\*</sup>, 蔡宝昌<sup>1</sup>, 钱建华<sup>3</sup>, 方小民<sup>3</sup>, 彭美仙<sup>3</sup>

(1. 浙江中医药大学中药炮制技术研究中心, 杭州 310053;

2. 浙江省省级药学类工程实践教学基地, 杭州 310053;

3. 浙江致中和实业有限公司, 浙江 建德 311607)

**[摘要]** 目的:建立测定玉竹酒基提取液中多糖含量的近红外光谱(NIR)快速分析方法。方法:采用苯酚-硫酸法测定 73 批玉竹酒基提取液中多糖含量,采用傅里叶变换近红外透射光谱技术采集玉竹酒基多糖提取液的近红外光谱,结合偏小二乘法(PLS)建立多糖的定量校正模型。结果:玉竹酒基提取液多糖校正模型校正集的相关系数(R)、内部交叉验证均方差(RMSECV)分别为 0.970 3, 0.771, 经外部验证,预测值与实测值的相关系数为 0.969 2, 预测均方差(RMSEP)为 0.624。结论:该方法快速方便、准确可靠,可用于玉竹酒基提取液多糖含量的快速测定。

**[关键词]** 在线近红外光谱; 定量分析; 多糖; 快速检测

**[中图分类号]** R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)20-0080-04

**[doi]** 10.11653/syjf2013200080

## Rapid Determination of the Polysaccharide Content in Polygonatum Wine Matrix Extract by Near Infrared Reflectance Spectroscopy

FAN Ling-ling<sup>1,2</sup>, ZHANG Wen-wen<sup>1,2</sup>, CONG Xiao-dong<sup>1,2\*</sup>, CAI Bao-chang<sup>1</sup>,  
QIAN Jian-hua<sup>3</sup>, FANG Xiao-min<sup>3</sup>, PENG Mei-xian<sup>3</sup>

(1. Zhejiang Chinese Medical University, Research Center of Traditional Chinese Medicine Processing Technology, Hangzhou 310053, China;

**[收稿日期]** 20130506(025)

**[基金项目]** 卫生部科学研究基金项目(WKJ2010-2-019);浙江省中医药科学研究基金项目(2012ZB032)

**[第一作者]** 樊玲玲, 硕士研究生, 从事中药活性成分及质量标准研究, Tel:18268160694, E-mail:yichun2424@163.com

**[通讯作者]** \*丛晓东, 硕士生导师, 从事中药活性成分与新药创制研究, Tel:0571-87195886, E-mail:congxiaodong199@yahoo.cn

### [参考文献]

[1] 贵州省药品监督管理局. 贵州省中药材、民族药材质量标准[S]. 贵阳:贵州科技出版社, 2003:75.  
[2] 李新茂, 贾正平, 张承忠, 等. 云实化学成分研究(II) [J]. 中草药, 2004, 35(7):741.  
[3] 李新茂, 张承忠, 李冲, 等. 云实化学成分研究(I) [J]. 中药材, 2002, 25(11):794.  
[4] 张琼, 刘雪婷, 梁敬钰, 等. 云实的化学成分[J]. 中国天然药物, 2008, 6(3):168.  
[5] 欧阳晓伟. 三种药用植物化学成分研究[D]. 上海:中国科学院研究生院, 2009.  
[6] Ui Joung Youn, Jun Lee, Joo Won Nam, et al. Identification of a new isomer of dihydrophaseic acid 3'-

*O*-β-D-glucopyranoside from *Nelumbo nucifera* [J]. Bull Korean Chem Soc, 2011, 32(11):4083.  
[7] Lin-chun Fu, Xin-an Huang, Zhen-yuan Lai, et al. A New 3-benzylchroman derivative from Sappan Lignum (*Caesalpinia sappan*) [J]. Molecules, 2008, 13(8):1923.  
[8] 陈玉平, 毕丹, 屠鹏飞. 苏木的质量标准研究[J]. 中国中药杂志, 2010, 35(16):2068.  
[9] 王爱民, 鄢艳, 郑林, 等. UPLC 同时测定荳蔻花中 7 种指标成分的含量[J]. 中国中药杂志, 2011, 36(22):3141.

[责任编辑 顾雪竹]

2. Provincial Pharmaceutical Engineering Practice Teaching Base in Zhejiang, Hangzhou 310053, China;

3. Zhejiang Zhizhonghe Industrial Corporation Limited, Jiande 311607, China)

**[Abstract]** **Objective:** To establish a near infrared spectroscopy method for the determination of polysaccharides in Polygonatum wine matrix extract. **Method:** The polysaccharide was measured by phenol-sulfuric acid method and the near-infrared spectroscopy of the Polygonatum wine matrix extract was collected by Fourier transform near infrared spectroscopy technology. Partial least square (PLS) was utilized to build the polysaccharide quantitative calibration model. **Result:** The results show that correlation coefficient (R), internal cross-validation mean square error (RMSECV) were 0.970 3 and 0.771. External validation samples collected on-line were used to evaluate the quantitative models. The root mean square error of prediction (RMSEP) and the correlation coefficient of the true value and prediction were 0.624 and 0.969 2. **Conclusion:** The presented method is rapid, accurate and reliable, which can be used in practice to fast determine polysaccharide content in Polygonatum wine matrix extract.

**[Key words]** on-line near infrared spectroscopy; quantitative analysis; polysaccharides; rapid detection

玉竹为百合科黄精属植物玉竹的干燥根茎,味甘,微寒,具有养阴润燥、生津止渴之功,用于脾胃阴伤、燥热咳嗽、咽干口渴、内热消渴<sup>[1]</sup>。多糖是其主要有效成分之一,具有降血糖<sup>[2]</sup>、抗肿瘤<sup>[3-4]</sup>、抗氧化<sup>[5]</sup>等活性。玉竹酒基提取液是致中和五加皮酒重要的中间体,目前,该中间体生产过程的质量控制一直沿用《中国药典》玉竹项下多糖测定法<sup>[1]</sup>,但这种测量方法前处理复杂、分析步骤多、耗时长,较难满足对大批量样品快速测定和在线质量控制的需求。由于近红外光谱分析技术有分析速度快、无损、在线等优点,已逐渐应用于中药质量的控制<sup>[6-11]</sup>。本实验拟采用近红外光谱技术<sup>[12-14]</sup>结合化学计量学方法建立多糖的定量模型,以便快速在线测定玉竹酒基提取液的多糖含量。

## 1 材料

傅立叶变换近红外光谱仪(Antaris II,美国 Thermo 公司),配有积分球、样品旋转台、样品杯、光谱采集软件和 TQ8.3.125 分析软件(美国 Thermo 公司);岛津 UV-2450 紫外-可见分光光度计(SHMADZU CORPORATION Kyoto Japan),XS-105 型电子分析天平(瑞士梅特勒公司),DKS-12 型电热恒温水浴锅(嘉兴市中新医疗仪器有限公司),KQ-500DB 型超声清洗器(昆山市超声仪器有限公司),TGL-16B 型高速台式离心机(上海安亭科学仪器厂)。

无水葡萄糖对照品(批号 110833-200904,中国食品药品检定研究院),苯酚、乙醇、硫酸均为分析纯,水为纯净水。

73 批玉竹酒基提取液(系玉竹饮片在 50% 乙醇

酒基中提取出的液体),均由浙江致中和实业有限公司提供,玉竹饮片经浙江致中和实业有限公司彭美仙高级工程师鉴定为百合科黄精属植物玉竹 *Polygonatum odoratum* (Mill.) Druce 的干燥根茎。

## 2 方法与结果

### 2.1 多糖含量的测定

**2.1.1** 对照品溶液的配制、标准曲线的绘制 均按玉竹药材多糖含量测定方法<sup>[1]</sup>。

**2.1.2** 供试品溶液的制备和含量测定 按《中国药典》方法<sup>[1]</sup>略加改进,取玉竹酒基提取液适量(约 4 mL),置 5 mL 离心管中,离心 10 min,精密取上清液 1 mL,置 10 mL 离心管中,加 95% 乙醇 8 mL,摇匀,离心 10 min,倾去上清液,加水,超声溶解沉淀,定量转移到 100 mL 量瓶中,加水,定容至刻度。精密量取 2 mL,置 10 mL 量瓶中,加水定容至刻度,摇匀,即得供试品溶液。

精密量取供试品溶液 2 mL,置具塞试管中,精密加入 4% 苯酚 1 mL,混匀,迅速精密加入浓硫酸 7 mL,充分混匀,于 40 °C 保温 30 min,取出,冰浴 5 min,在 490 nm 波长处测其吸光度(A),用 **2.1.1** 项下标准曲线计算浓度(C),73 批玉竹酒基提取液多糖含量为 3.47 ~ 15.78 g·L<sup>-1</sup>。

**2.2** 近红外光谱数据的采集 将 73 份样品液离心,取适量于液体样品管中,测量参数透射,分辨率 8 cm<sup>-1</sup>,扫描次数 64 次,扫描范围 4 000 ~ 10 000 cm<sup>-1</sup>,每个样品重复扫描 3 次,求平均光谱。73 份玉竹酒基提取液近红外光谱叠加见图 1。

**2.3** 建立模型的方法 将玉竹酒基提取液多糖含

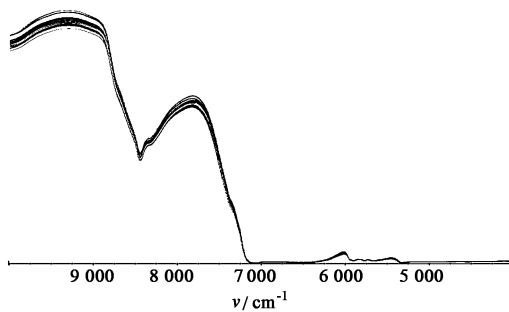


图 1 73 份玉竹酒基提取液近红外光谱

表 1 多糖模型不同预处理方法的比较

预处理方法	R	RMSEC	RMSEP	RMSECV	Factors
原始光谱	0.979 7	0.638	0.583	0.808	6
一阶导数	0.983 3	0.579	0.624	0.771	6
一阶导数 + SG 平滑滤波	0.980 3	0.629	0.717	0.802	6
二阶导数	0.883 7	1.49	2.30	2.28	6
二阶导数 + SG 平滑滤波	0.909 9	1.32	1.34	1.62	5
二阶导数 + Norris 导数滤波	0.938 5	1.10	1.35	1.26	4

**2.3.1 建模谱段的选择** 以相关系数(R)和校正均方差(RMSECV)为指标,通过 TQ Analyst 软件推荐,最终玉竹基酒提取液选择 6 028.39 ~ 5 943.53  $\text{cm}^{-1}$  波段建模。

**2.3.2 因子数选择** 建立模型时,所选的主因子数对预测结果的影响相对比较大。如果 PLS 所用的因子数过少,光谱中一些有用信息因不被包含而导致模型的预测能力较差;反之,选择的因子数过多,则出现过拟合现象影响其结果。图 2 为主因子数 Factor, RMSECV、预测残差平方和(PRESS)相关图,采用内部验证法,根据内部交叉验证均方差(RMSECV)随主因子数的变化,主因子数选择为 6。

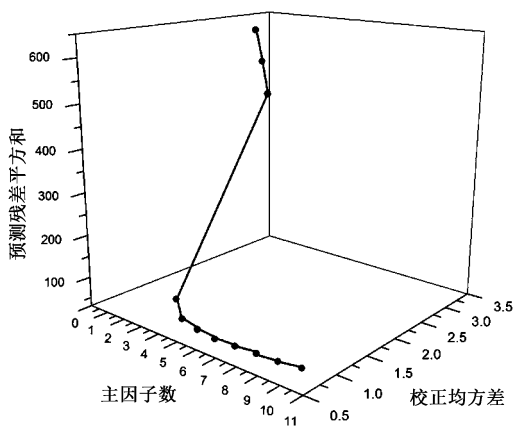


图 2 校正集预测残差平方和、校正均方差、预测残差平方和之间的相关性

**2.3.3 模型的建立** 从样品中选取 58 个为标准样

量值和近红外光谱输入 TQ Analyst 定量分析软件,进行数据处理,采用化学计量学中的偏最小二乘法(PLS)建立定量校正模型。通过不同的滤噪方法以及不同的模型校正方法进行组合,比较不同方法组合条件下的相关系数(R)、校正均方差(RMSEC)、预测均方差(RMSEP)、内部交叉验证均方差(RMSECV)和因子数(Factors),结果见表 1。经过多次手动选择及综合比较,最终选择一阶导数处理效果最好。

本集,15 个为验证集,经 Outliers 优化,剔除溢出值,以保证模型的准确性。运用 PLS 法建立玉竹酒基提取液多糖的定量校正模型,建模因子数为 6。结果如图 3 所示,相关系数 R 为 0.970 3, RMSECV 为 0.771。

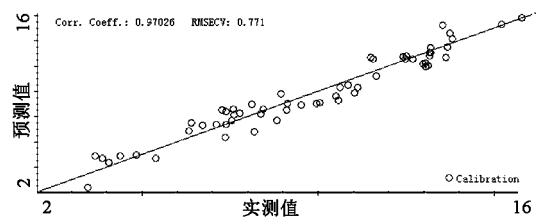


图 3 玉竹酒基提取液 PLS 建模

**2.3.4 外部验证** 运用建立的最佳校正模型,对预测集中的多糖含量进行预测。多糖的预测结果见表 2,预测值与实测值之间建立回归方程为  $Y = 0.8953X + 1.215$  ( $R^2 = 0.9692$ )。由表 2 可知,预测值的平均相对误差为 5.49%,因此,可以认为该校正模型可靠。

**2.4 结果** 本实验将近红外光谱法与化学计量法结合,运用偏最小二乘法建立了玉竹酒基提取液多糖含量模型,该模型对多糖含量有较好的预测能力,可满足生产过程的质量控制,实现玉竹多糖快速、无损的定量分析。

### 3 讨论

本实验方法不需要样品的前处理,扫描玉竹酒基提取液近红外光谱只需 64 s(扫描 64 次),代入

表2 玉竹酒基提取液外部验证分析

No.	实测值 /g·L <sup>-1</sup>	预测值 /g·L <sup>-1</sup>	绝对误差 /g·L <sup>-1</sup>	相对误差 /%
1	12.50	13.09	0.59	4.72
2	13.96	14.23	0.27	1.93
3	13.31	13.44	0.13	0.98
4	9.81	9.29	0.52	5.30
5	7.47	7.64	0.17	2.28
6	9.89	9.46	0.43	4.35
7	8.88	8.97	0.09	1.01
8	12.77	12.96	0.19	1.49
9	15.44	16.08	0.64	4.15
10	5.79	5.87	0.08	1.38
11	7.72	7.01	0.71	9.20
12	8.52	7.71	0.81	9.41
13	13.30	12.30	1.00	7.52
14	13.68	12.97	0.71	5.19
15	15.14	16.48	1.34	8.85

模型便可得到多糖含量,而紫外-可见分光光度法测量1次至少需要30 min,大大节省了分析时间。该方法适合大批量样品的含量测定和在线质量控制,为玉竹酒基提取液的质量监控提供一种新的方法和思路。

#### [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, 2010:78.
- [2] 季峰,魏贤勇,刘广龙,等. 玉竹多糖降血糖作用的实验研究[J]. 江苏中医药,2006, 27(9):70.
- [3] 许金波,陈正玉. 玉竹多糖抗肿瘤作用及其对免疫功能

能影响的实验研究[J]. 深圳中西医结合杂志,1996, 6(1):13.

- [4] 李尘远,刘玲,潘兴瑜. 玉竹提取物 B 对 Hela 细胞凋亡的影响[J]. 锦州医学院学报,2003, 24(6):14.
- [5] 朱欣佚,谢建军,王长松. 玉竹多糖对糖尿病模型大鼠糖脂代谢和脂质过氧化作用的影响[J]. 江苏中医药,2008, 40(10):114.
- [6] 黄倩倩,潘瑞乐,魏建和,等. 近红外漫反射光谱法测定黄芩中总黄酮及黄芩苷的含量[J]. 光谱学与光谱分析,2009,29(9):2425.
- [7] 卢京光,王立云,李新荣,等. 近红外光谱法快速分析硫普罗宁注射液的含量[J]. 中国药学杂志,2012,47(16):1328.
- [8] 白雁,张威,王星,等. 近红外光谱法测定不同厂家银黄颗粒中黄芩苷含量[J]. 中国中药杂志,2010,35(2):166.
- [9] 白雁,李珊,王星,等. 近红外光谱技术在测定银黄颗粒中黄芩苷含量的应用[C]. 北京:第十届全国中药和天然药物学术研讨会论文集,2011, 17(5):66.
- [10] 代涛,汪学楷,林翔,等. 近红外光谱法测定黄芩提取物中黄芩苷含量[J]. 化学研究与应用,2010, 22(2):222.
- [11] 陈晨,李文龙,瞿海斌,等. 复方苦参注射液渗漏过程的近红外光谱在线监测方法[J]. 中国药学杂志, 2012, 47(21):1698.
- [12] 陆婉珍,袁洪福,徐广通,等. 现代近红外光谱分析技术[M]. 北京,中国石化出版社,2000:19.
- [13] Yves Roggo, Pascal Chalus, Lene Maurer, et al. A review of near infrared spectroscopy and chemometrics in pharmaceutical technologies [J]. J Pharm Biomed Anal, 2007,44(3):683.
- [14] 白雁,鲍红娟,王东,等. 药用菊花不同提取部位的红外光谱分析[J]. 中成药,2007,29(3):401.

[责任编辑 顾雪竹]