

· 化学与分析 ·

# 基于氯化铵溶液的近红外在线定量分析方法的建立

王运丽, 史新元, 吴志生, 程伟, 乔延江\*  
(北京中医药大学中药信息工程研究中心, 北京 100102)

**[摘要]** **目的:**采用近红外光谱技术建立氯化铵溶液中氯化铵含量的在线分析方法,并探讨气泡对于检测结果的影响,从而指导中药活性成分的在线检测。**方法:**以氯化铵水溶液为载体,采集近红外光谱,以偏最小二乘法(PLS)建立模型,基于残差剔除离群值,进行模型优化,通过人工制造气泡考察对模型的影响,并对未知样品进行预测。**结果:**近红外测量值与实际值相近,预测效果良好,所建氯化铵定量校正模型的相关系数( $R^2$ )、内部交叉验证均方差(RMSECV)分别为0.991,0.493。经外部验证,模型的预测均方差(RMSEP)为0.222。当氯化铵浓度大于 $1.504\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,预测相对误差(RESP)控制在10%以内。结果表明气泡对于模型影响不大。**结论:**采用近红外光谱技术建立的在线分析模型,预测结果的相对偏差满足中药活性成分在线检测的要求,为近红外光谱技术应用于药物在线生产与分析提供了有效的方法和依据。

**[关键词]** 近红外光谱法;氯化铵;在线检测;偏最小二乘

**[中图分类号]** R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)01-0043-05

## Establishment of a NIR on-line Quantitative Analysis Method Based on $\text{NH}_4\text{Cl}$

WANG Yun-li, SHI Xin-yuan, WU Zhi-sheng, CHENG Wei, QIAO Yan-jiang\*  
(Research Center of TCM-information Engineering, Beijing University of Chinese  
Medicine, Beijing 100102, China)

**[Abstract]** **Objective:** In order to guide the on-line detection of active components of Traditional Chinese Medicine, the on-line analysis method of NIRS was established for  $\text{NH}_4\text{Cl}$  solution by using the near infrared spectroscopy technology. In addition, the impact of bubbles on the detection result was evaluated. **Method:** The near-infrared spectroscopy technique was used to determine the content of  $\text{NH}_4\text{Cl}$ . The prediction model was established using partial least squares (PLS) method after rejecting outliers. **Result:** The predicted value calculated by the established model was quite close to the true value, which indicated a nice performance of the near infrared spectrometer in quantitative ability. The correlation coefficients ( $R^2$ ) and the root-mean-square error of cross-validation (RMSECV) of the quantitative calibration model were 0.991, 0.493 respectively. The root-mean-square error of prediction (RMSEP) was 0.222. The relative prediction error (RESP) was less than 10% when the concentration of  $\text{NH}_4\text{Cl}$  was higher than  $1.504\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ . In addition, the results showed that the impact of the bubble on the detection result was so small that it could be neglected. **Conclusion:** The error level of near-infrared spectroscopy technology could satisfy the on-line detection of traditional chinese medicine.

**[Key words]** near infrared spectroscopy; ammonium chloride; on-line; PLS

**[收稿日期]** 20110803(003)

**[基金项目]** 重大新药创制项目(2010ZX09502-002)

**[第一作者]** 王运丽, 硕士, 从事中药制药在线质量控制, Tel: 15210690304, E-mail: wangyunli87@hotmail.com

**[通讯作者]** \* 乔延江, 博士, 教授, 从事中药过程分析, 中药信息工程, Tel: 010-84738650, E-mail: yjqiao@263.com

近年来随着过程分析化学(process analytical chemistry, PCA)的快速发展,极大地推动了药物质量分析技术的研究和应用。以此为契机,美国FDA(U.S food and drug administration)将过程分析技术(process analytical technology, PAT)定义为一个体系:包括设计、分析和控制加工制造的过程,并通过

对原材料、中间产品的关键品质和性能特征的监测, 来确保最终产品的质量<sup>[1]</sup>。从生产过程中获取数据, 是过程分析的基础, 只有从生产过程中提取数据并对之进行处理, 才能合理地调整工艺参数, 进而控制产品的质量, 因此也越来越受到人们的重视。

近红外光谱技术 (near infrared spectroscopy, NIRS) 具有快速、无损的特点<sup>[2]</sup>, 是过程分析的有效方法之一。它被广泛应用于生产生活的各个方面, 特别是在中药的质量控制领域<sup>[3-4]</sup>, 由各类中药制剂的快速定性<sup>[5-6]</sup> 定量<sup>[7-8]</sup> 鉴别发展到近年来在中药生产过程有效组分的快速检测分析<sup>[9-11]</sup>。与此同时, 近红外光谱仪器性能也在不断地发展进步中<sup>[12-14]</sup>。然而, 近红外光谱技术用于中药质量控制仍局限于离线分析<sup>[15-16]</sup>, 对于中药质量的在线分析研究应用较少。

近红外是介于可见光 (Vis) 和中红外 (MIR) 之间的电磁辐射波, 它与有机分子中含氢集团 (OH, NH, CH, SH) 振动的合频和各级倍频的吸收区一致, 通过扫描样品的近红外光谱, 可以得到样品中有机分子含氢基团的特征信息。而氯化铵溶液属于较简单的体系, 除了水中的 OH 影响以外, 只含有 NH 振动, 无其他含氢基团振动的影响。本文以氯化铵水溶液为研究载体, 采用浓度梯度法考察近红外光谱在线分析的定量性能, 并探讨了干扰因素气泡对定量结果的影响。

## 1 材料

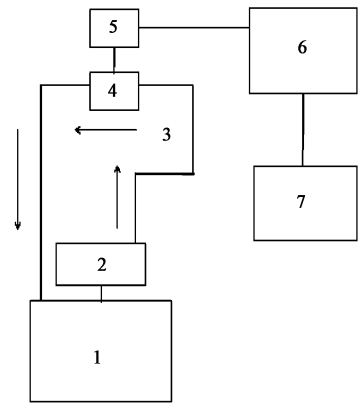
**1.1 仪器** Luminar 3060 AOTF (Acousto-Optic Tunable Filter) 近红外光谱仪 (BRIMROSE, 美国), 流体测样器 (光程 1 cm, BRIMROSE, 美国), 光纤探头 (BRIMROSE, 美国), 自制旁路在线检测装置, The Unscrambler 光谱分析软件 (CAMO, 挪威)。

**1.2 试剂** 氯化铵固体 (天津市化学试剂有限公司, 批号 20091225), 水为双蒸水。

## 2 方法与结果

**2.1 样品制备** 精密称取干燥至恒重的氯化铵固体, 配制成浓度区间 0.100 ~ 13.000 g·L<sup>-1</sup> 的 50 份水溶液样品, 浓度由低到高分布。模拟生产过程在线检测的方式, 将光纤探头安装在流体测样器中, 以泵驱动样品溶液, 在流体测样器中流过, 样品信息经过检测器, 由电脑记录近红外光谱数据信息。检测装置简图如图 1 所示。调整取样管浸入氯化铵溶液样品池的深度, 在样品流动过程中人工制造气泡, 考察测样过程中气泡对仪器定量性能的影响。

**2.2 近红外光谱的采集** 采用光纤探头, 以透射方



1. 氯化铵溶液样品池; 2. 泵; 3. 溶液管道; 4. 流体测样器; 5. 光纤探头; 6. 近红外检测器; 7. 笔记本电脑  
图 1 实验装置示意

式采集样品光谱数据, 波长范围 1 100 ~ 2 300 nm, 波长增量 2.0 nm, 扫描次数 300, 采集模式 Automatic mode。每个样本重复扫描 10 张光谱再求平均光谱, 见图 2。

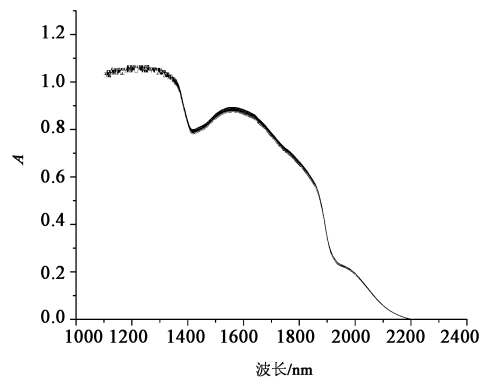


图 2 氯化铵水溶液的近红外原始吸收光谱

## 2.3 模型的建立与验证

**2.3.1 光谱预处理** 为了从光谱中获得有效的信息, 减少各种误差对模型的影响, 需要对光谱数据进行预处理。本文通过一阶导数、二阶导数、SG 平滑、基线校正 (Baseline) 法、标准归一化法 (SNV) 等方法进行光谱预处理, 以消除基线漂移、样品不均、光散射及高频噪声等因素的影响。采用偏最小二乘法 (PLS) 建立校正模型, 利用十折交叉验证法选择建模参数, 比较得出氯化铵定量校正模型的决定系数 ( $R^2$ ), 交叉验证均方根误差 (RMSECV) 等指标确定最优的实验模型, 确定最佳光谱预处理方法。如表 1 所示, 本实验所选的最佳预处理方法为一阶导数 + SG 平滑, 光谱预处理后的图形见图 3。

**2.3.2 主成分数的选定** 合理确定参加建模的主

表 1 不同的光谱预处理方法对建模的影响

方法	$R^2$	RMSECV	RMSEP
无预处理	0.983	0.311	0.690
一阶导	0.970	0.917	1.810
一阶导 + SG 平滑	0.991	0.493	0.222
二阶导 + SG 平滑	0.977	0.501	0.328
SNV	0.989	0.630	0.311
Baseline	0.990	0.326	0.413

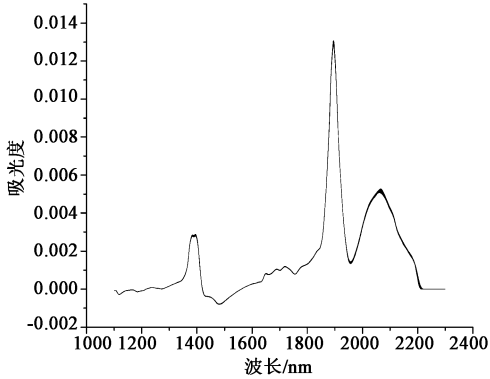


图 3 氯化铵水溶液的一阶导数 + SG 平滑光谱图

成分数是充分利用光谱信息和滤除噪音的有效方法之一。建立模型时使用的主成分数过少,就不能反映对待测样品的光谱变化,其模型的预测准确度就会降低,这种情况称为不充分拟合。若使用过多的主成分建立模型,则会将一些代表噪音的主成分带到模型中,使模型的预测能力下降,此为过拟合。如图 4 所示纵坐标为预测残差平方和 (PRESS), PRESS 值越小,说明所建模型预测能力越好。经过交叉验证法本文最终确定最佳主成分数为 7。

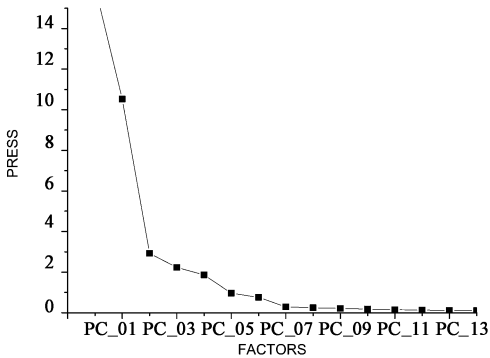


图 4 PRESS 值-主成分数目的关系图

**2.3.3 模型的优化** 模型优化是通过异常值 (outlier) 的剔除来实现的,即分别采用三维空间分布值 influence 和线性相关性这 2 个统计量作为依据进行异常值的剔除。三维空间分布值 Influence 如图 5,由于分析对象均为氯化铵水溶液,因此理论上

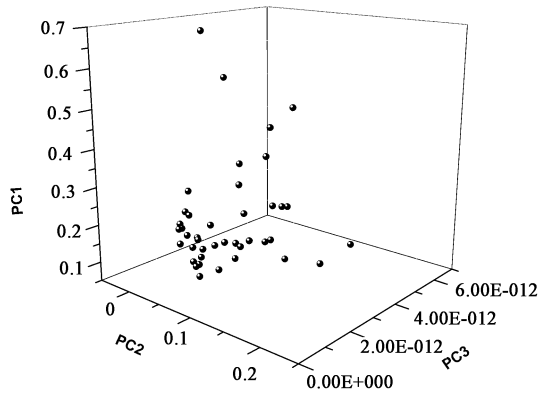


图 5 三维空间分布值 Influence

讲光谱信息因相似性而分布在一个相对集中的空间内,所以在三维空间分布图中大部分的样品会聚集在一起,少数点离散在比较远的区域,对这些点进行剔除以优化模型。

**2.3.4 校正模型的建立** 本文用 The Unscrambler 软件包进行条件筛选。采用 PLS + SG + 一阶导数法,主因子数 7,采用 4:1 的比例将样本划分为校正集和验证集,确保所选验证集更具代表性,且浓度范围处于校正集样品浓度范围之内,进行校正模型的建立。图 6 为氯化铵质量浓度为 0.1 ~ 13.0 g·L<sup>-1</sup> 的全谱建模结果。结果表明,采用近红外光谱法对氯化铵溶液进行在线测量,在 0.1 ~ 13.0 g·L<sup>-1</sup> 浓度光谱预测值与真实值之间相关性良好,内部交叉验证均方差 (RMSECV) 为 0.493,  $R^2 = 0.991$ 。

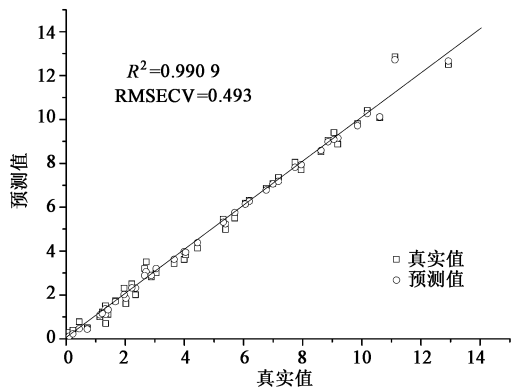


图 6 氯化铵定量校正模型

**2.4 模型的外部验证** 为了检验近红外光谱定量分析的可靠性,采用 10 份不同浓度的样品进行了外部验证,代入不含气泡的模型,结果见表 2。10 份样品的 NIR 预测值与真实值比较接近, RMSEP 为 0.222。

由结果可知该方法对于高浓度的样品预测结果

表 2 验证集样品氯化铵含量预测

No.	称量计算值 /g·L <sup>-1</sup>	NIR /g·L <sup>-1</sup>	RSEP /%	RMSEP
1	0.290	0.328	13.103	
2	1.504	1.642	9.175	
3	2.852	2.748	2.725	
4	5.502	5.704	3.671	
5	6.310	6.011	4.738	0.222
6	8.521	8.731	2.464	
7	9.400	9.716	3.361	
8	9.804	9.965	1.642	
9	10.716	10.307	3.817	
10	12.855	12.860	0.039	

表 3 含气泡样本预测平均相对偏差比较

样本浓度/g·L <sup>-1</sup>	RSEP/% (无气泡)	RSEP/% (含气泡)
12.855	5.001	4.820
13.016	1.561	1.543

更好,当氯化铵浓度 > 1.504 g·L<sup>-1</sup>,RESP 控制在 10.000% 以内,满足中药生产过程实时分析的精度要求<sup>[17]</sup>,也满足了生物制品分析的精度要求<sup>[18]</sup>。

当氯化铵浓度 > 2.852 g·L<sup>-1</sup>时,预测值与真实值的相对偏差 < 5.000%,符合药物有效成分分析的精度要求<sup>[18]</sup>。

**2.5 气泡因素的考察结果** 对氯化铵浓度 12.855,13.016 g·L<sup>-1</sup> 2 个样品,分别在有气泡和无气泡条件下进行光谱数据采集,以考察气泡对检测结果的影响。选择这 2 个浓度的样品进行气泡影响的考察,是因为高浓度下可以排除在较低浓度在实验过程中的损失影响较大,以防其影响结果的评判,可以单一考察气泡的影响。将含有气泡样本参与 PLS 建模,经过异常点的剔除进行模型优化,结果如图 7。 $R^2 = 0.9912$ ,线性相关关系良好,与不含气泡的  $R^2$  非常接近。

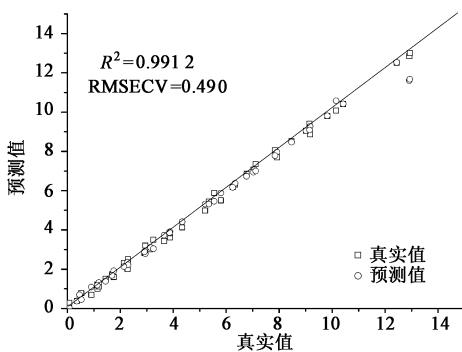


图 7 包含气泡样本定量模型

分别计算有气泡和无气泡情况下预测相对偏差,比较结果见表 3。由表 3 可知,气泡对于模型预测结果影响不大。

### 3 讨论

本文以氯化铵溶液简单体系为研究载体,以氯

化铵为目标有效成分考察了近红外光谱法在线分析的定量性能,并考察了在线分析过程中气泡对定量结果的影响。结果表明,近红外光谱法可用于氯化铵水溶液中氯化铵成分的在线定量分析,并且符合药物有效成分分析精度要求。随着待测物质浓度的提高,近红外光谱法的在线分析定量性能随之提高,气泡对测定结果的影响不显著。

样品浓度较低时,模型对于样品预测相对偏差较大,原因可能是由于模拟在线检测过程,液体在管路中一直处于不断流动状态,流体测样器的稳定性以及大体积容器检测过程中产生的损失会导致部分数据失真,增大了预测误差。但其结果仍能满足过程分析对误差的要求。本文研究结果可指导应用近红外技术在线快速检测药物有效成分,为近红外光谱技术应用用于药物在线生产与分析提供了有效的方法和依据。

[致谢] 金宏利实业有限公司提供实验仪器以及实验场地。

### [参考文献]

- [1] American Food Drug Administration (FDA). Guidance for industry PAT-A framework for innovative pharmaceutical manufacturing and quality assurance [S]. 2004.
- [2] 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, 2007: 36.
- [3] 李晓明,杨滨. 近红外光谱技术的研究进展及其在中药领域的应用[J]. 中国实验方剂学杂志, 2006, 12 (12): 69.
- [4] 展晓日,史新元,乔延江. 乳块消片生产过程中醇提液快速质量评价方法研究[J]. 世界科学技术——中医药现代化, 2008, 10(5): 130.
- [5] 范如军,秦晓晖,宋岩,等. 基于近红外光谱的淫羊藿定性鉴别及定量检测[J]. 中国实验方剂学杂志, 2010, 16(13): 85.
- [6] 丁念亚,黎薇,朱仲良,等. 近红外漫反射光谱在中药分类及真伪鉴别中的应用[J]. 计算机与应用化学, 2008, 25(4): 499.
- [7] 高晓燕,史新元,乔延江,等. 指数方程法快速测定金银花提取液中绿原酸的含量[J]. 药物分析, 2008, 28(9): 1433.

# HPLC 同时测定葶苈中胡椒碱和葶苈明宁碱含量

毕赢<sup>1</sup>, 刘军辉<sup>1</sup>, 罗容<sup>1</sup>, 王庆松<sup>2</sup>, 吴霞<sup>1\*</sup>

(1. 首都医科大学中医药学院中药系, 北京 100069; 2. 首都医科大学  
基础医学院实验教学中心, 北京 100069)

**[摘要]** 目的: 采用 HPLC 同步测定葶苈中胡椒碱和葶苈明宁碱的含量, 为葶苈药材多指标质量控制奠定基础。方法: 以葶苈药材中胡椒碱和葶苈明宁碱为指标成分, 应用 C<sub>18</sub> (4.6 mm × 250 mm, 5 μm) 柱, 流动相 0.25% 甲酸-甲醇 (35:65), 流速为 1 mL·min<sup>-1</sup>, 检测波长 343 nm, 柱温 40 °C。结果: 胡椒碱和葶苈明宁碱的峰面积与浓度的线性关系良好 ( $r=0.9999$ ), 平均加样回收率为 100.4%, 102.2%, RSD 分别为 2.6%, 2.5%。建立了同时对葶苈中的 2 个成分进行定量的测定方法, 并将此方法用于不同来源的葶苈各成分的测定。结论: 该方法简便快捷, 重复性良好, 为中药材葶苈提供了更合理、可靠的质控方法。

**[关键词]** 高效液相色谱法; 葶苈; 胡椒碱; 葶苈明宁碱; 含量测定

**[中图分类号]** R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)01-0047-04

## Simultaneous Determination of Piperine and Piperlongumine in *Piper longum* by HPLC

BI Ying<sup>1</sup>, LIU Jun-hui<sup>1</sup>, LUO Rong<sup>1</sup>, WANG Qing-song<sup>2</sup>, WU Xia<sup>1\*</sup>

**[收稿日期]** 20110511(012)

**[基金项目]** 国家自然科学基金面上项目(81073016); 北京市教育委员会科技计划面上项目(KM201010025013, PHR200907113)

**[第一作者]** 毕赢, 在读硕士研究生, 从事中药化学成分与新药研发, Tel: 13466790318, E-mail: dlby0419@yahoo.com.cn

**[通讯作者]** \* 吴霞, 博士, 副教授, 硕士生导师, 从事中药化学成分与新药研发, Tel: 010-83911671, E-mail: wuxia6710@163.com

- [8] 白雁, 张威, 龚海燕, 等. NIRS 结合 TQ 软件建立银黄颗粒中绿原酸定量模型[J]. 中国实验方剂学杂志, 2010, 16(7): 35.
- [9] 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苓药材的水分[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(10): 62.
- [10] 杨南林, 程翼宇, 瞿海斌. 一种用于中药纯化过程的近红外光谱分析新方法[J]. 化学学报, 2003, 61(5): 742.
- [11] 邢丽红, 徐金钟, 瞿海斌. 近红外光谱法快速测定丹参醇沉过程中的鞣制[J]. 药物分析杂志, 2010, 30(10): 1813.
- [12] Woo Y A, Kim H J, Ze K R. Near-infrared spectroscopy for the non-destructive and fast determination of geographical origin of *Angelicae gigantis radix* [J]. Phram Biomed, 2005, 36(5): 955.
- [13] Blanco M, Gozalez B R, Bertran E. Monitoring powder blending in pharmaceutical processes by use of near infrared spectroscopy [J]. Talanta, 2002, 56(1): 203.
- [14] 吉海彦. 近红外光谱仪器技术[J]. 现代科学仪器, 2001: 6.
- [15] 张延莹, 张金巍, 刘岩. 近红外技术在白芍醇提在线质量监控中的应用[J]. 中国医药工业杂志, 2010, 41(9): 662.
- [16] 章顺楠, 杨海雷, 刘占强, 等. 近红外光谱法在线检测复方丹参滴丸料液中有有效成分含量[J]. 药物分析杂志, 2009, 29(2): 192.
- [17] 陈雪英, 陈勇, 王龙虎, 等. 红花醇沉液浓缩除醇过程中多元指控指标的近红外快速检测[J]. 药物分析杂志, 2010, 30(11): 2086.
- [18] Max Feinberg, Bruno Boulanger, Walther Dewe. New advances in method validation and measurement uncertainty aimed at improving the quality of chemical data[J]. Anal Bioanal Chem, 2004, 380: 502.

[责任编辑 蔡仲德]