

## 近红外光谱法测定道地产区生地黄中梓醇的含量

白雁<sup>\*</sup>, 李雯霞, 王星, 龚海燕, 谢彩霞  
(河南中医学院, 郑州 450008)

[摘要] 目的: 运用近红外光谱法建立道地产区生地黄中梓醇含量的近红外光谱定量分析模型。方法: 利用 HPLC 测定样品中梓醇的含量, 运用偏最小二乘法 (PLS) 建立其含量与 NIR 光谱之间的校正模型, 并对未知样品进行预测。结果: 校正集内部交叉验证决定系数  $R^2$  为 0.993 83, 交互验证均方根偏差 RMSEC 为 0.087 5, 预测均方根偏差 RMSEP 为 0.032 0。结论: 利用近红外光谱法测定生地黄中梓醇的含量是可行的, 该法具有快速、简便、无损等特点。

[关键词] 生地黄; 近红外光谱; 梓醇

[中图分类号] R284.1 [文献标识码] B [文章编号] 1005-9903(2010)13-0045-03

### Determination of Catalpol Content in Radix Rehmanniae from Genuine Producing Area by Near Infrared Spectroscopy

BAI yan<sup>\*</sup>, LI Wen-xia, WANG Xing, GONG Hai-yan, XIE Cai-xia  
(Henan University of Traditional Chinese Medicine, Zhengzhou 450008, China)

**[Abstract] Objective:** The quantitative analysis model for determination of the content of catalpol in Radix Rehmanniae from genuine producing area was established using near-infrared spectroscopy. **Method:** The catalpol content was determined by HPLC. The near-infrared model was established combined the near-infrared spectroscopy with the value determined by HPLC. And then predict the model with verification. **Result:** The correlation coefficient of calibration ( $R^2$ ) was 0.993 83. Root mean square error of cross validation (RMSEC) was 0.087 5; Root mean square error of prediction (RMSEP) was 0.032 0. **Conclusion:** It was feasible to determine the catalpol content in Radix Rehmanniae and it provided a rapid convenient method for quality control of Radix Rehmanniae.

**[Key words]** Radix Rehmanniae; near-infrared spectroscopy (NIR); catalpol

地黄为玄参科植物地黄 *Rehmannia glutinosa* Libosch. 的新鲜或干燥块根, 是常用的一种中药材, 主产于河南、山东、河北等地, 其中河南省焦作产的地黄个大, 质优, 为道地药材, 也是四大怀药之一<sup>[1]</sup>。生地黄性寒, 味甘, 能清热凉血、养阴、生津, 其有效成分梓醇其具有降血糖、缓泻、滋阴、抗炎和抗肝炎病毒等多种生物活性<sup>[2]</sup>, 《中国药典》2005 年版及

2010 年版一部均以梓醇含量作为地黄的质量评价标准<sup>[3-4]</sup>, 其收载的方法为高效液相色谱法, 但该方法需要对样品进行繁琐的前处理, 不但耗时耗试剂且对环境有污染。

本课题组一直致力于近红外光谱技术在中药材质量控制中的研究<sup>[5-6]</sup>, 虽然自 20 世纪 80 年代以来, 国内外学者对地黄进行了大量研究<sup>[7]</sup>, 但一直以来并未见有关于其主要有效成分梓醇的近红外光谱的研究报道, 而有文献称道地药材怀地黄梓醇含量高于其他产区地黄<sup>[8]</sup>, 本课题就以道地产区的 75 份生地黄中的梓醇含量为研究对象, 运用新型分析技术近红外光谱技术对其进行分析, 建立了一种快速测定道地产区生地黄梓醇含量的方法。

[收稿日期] 20100604(010)

[基金项目] 河南省重大公益科研项目(081100912500); 河南省杰出人才计划项目(084200510017)

[通讯作者] \* 白雁, 教授, 博士硕士生导师, 研究方向利用现代分析方法对中药品质进行研究, E-mail: white\_yan@hotmail.com, Tel: 0371-65962967

## 1 材料

Nicolet6700 型傅里叶变换近红外光谱仪, 配有 InGaAs 检测器, 外接积分球、样品旋转器、OMNIC 光谱采集软件和 TQ7.2 分析软件; Waters2695 高效液相色谱仪, 梓醇(批号 808-200508, 中国药品生物制品检定所), 乙腈(色谱纯, TEDIA 公司), 甲醇(色谱纯, 天津四友), 水为蒸馏水, 其他均为分析纯。

75 份生地黄均于 2008 年四月购于焦作, 经河南中医学院董诚明教授鉴定为玄参科植物地黄 *Rehmannia glutinosa* Libosch. 的炮制品。其中 j1-j11 号为孟州采, j12-j55 为温县采, j56-j75 为武陟采。二三级货居多。生地样品切 5 mm 左右的薄片, 80 减压干燥 24 h, 粉碎过 80 目筛, 备用。

## 2 方法与结果

**2.1 近红外光谱采集** 取生地粉末约 5 g, 装入标准石英杯, 垫实, 采集光谱。测样方式积分球漫反射, 分辨率  $8\text{ cm}^{-1}$ ; 扫描次数 32 次; 扫描范围  $12\ 000\sim4\ 000\text{ cm}^{-1}$ ; 温度  $25\sim30$ ; 相对湿度 50%。每个样品重复扫描 6 次, 计算平均光谱以建立模型。75 份样品的近红外光谱叠加见图 1。

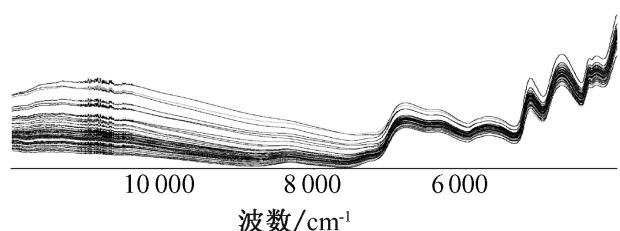


图 1 75 份样品的近红外光谱叠加图

## 2.2 梓醇的 HPLC 测定

**2.2.1 色谱条件** 色谱柱迪马 PLATISIL ODS (4.6 mm x250 mm, 5  $\mu\text{m}$ ), 流动相乙腈-0.1% 磷酸 (1:99), 检测波长 210 nm, 柱温 28, 流速  $1\text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ 。

**2.2.2 对照品溶液的配制** 精密称取梓醇对照品 10.45 mg 于 25 mL 量瓶中, 加 0.1% 磷酸至刻度得  $0.418\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$  梓醇对照液。

**2.2.3 供试品溶液的制备** 取本品粉末 0.4g, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 精密加入甲醇 25 mL, 称定质量, 加热回流提取 1.5 h, 放冷, 再称定质量, 用甲醇补足减失的质量, 摇匀, 滤过。精密量取续滤液 10 mL 置蒸发皿中, 浓缩至近干, 残渣用流动相溶解, 转移至 10 mL 量瓶中, 并用流动相定容至刻度, 摇匀, 过  $0.22\ \mu\text{m}$  微孔滤膜即得。

**2.2.4 含量测定** 分别精密吸取供试品和对照品溶液各 10  $\mu\text{L}$ , 注入高效液相色谱仪进行测定, 每份

样品平行测 2 次, 求平均值, 75 份生地样品梓醇百分含量如图 2 所示:

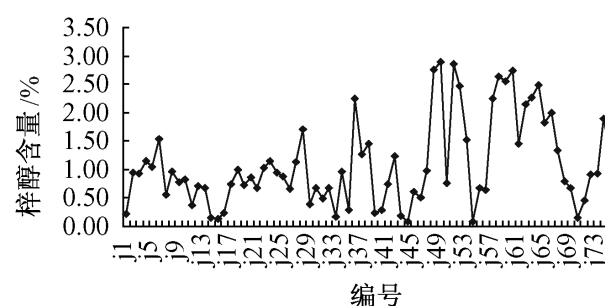


图 2 75 份梓醇 HPLC 含量分布图

## 3 模型的建立与验证

**3.1 光谱预处理** 以内部交叉验证决定系数 ( $R^2$ )、内部交叉验证均方差 (RMSEC) 和预测均方根偏差 (RMSEP) 为综合指标, 考察了不同预处理方法的建模合理性。其中  $R^2$  越接近 1 越好, RMSEC 与 RMSEP 越小越好。如表 1、表 2 所示, 本实验所选的最佳方法为 PLS + SNV + 二阶导数法, 最佳建模范围  $4\ 186.14\sim6\ 830.05\text{ cm}^{-1}$ 。

表 1 不同光谱预处理方法对建模的影响

方法	$R^2$	RMSEC	RMSEP
PLS + MSC(多元散射校正) + 一阶导数	0.743 63	0.527	0.234
PLS + MSC(多元散射校正) + 二阶导数	0.950 89	0.244	0.096 1
PLS + SNV(标准归一化法) + 二阶导数	0.993 83	0.087 5	0.032 0

表 2 建模波段对模型的影响

波段/ $\text{cm}^{-1}$	$R^2$	RMSEC	RMSEP
4 186.14 - 6 830.05	0.993 83	0.087 5	0.032 0
4 408.38 - 7 477.92	0.882 01	0.372	0.229
6 905.04 - 10 222.96	0.915 13	0.318	0.326
4 952.38 - 102 34.93	0.857 01	0.406	0.248

**3.2 主成分数的选定** 本实验用交互验证法, 以校正样品集 RMSECV 为优化参数, 选择最适主成分数, 当 RMSECV 值最小时, 所选主成分数最佳<sup>[9]</sup>。如图 3 所示, 最佳主成分数为 7。

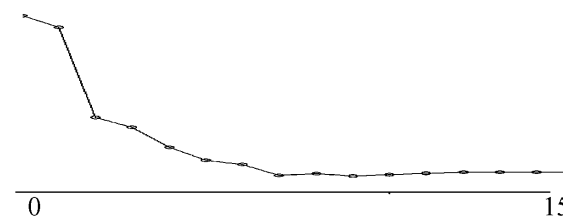


图 3 训练集 RMSECV 与主成分数之间的相关图

**3.3 校正模型的建立** 本实验用 TQ7.2 软件包进行条件筛选。采用 PLS + SNV + 二阶导数法, 建模范围  $4\ 186.14\sim6\ 830.05\text{ cm}^{-1}$ , 主因子数 7, 75 批地黄样品其中 67 批用于建立模型, 校正集  $R^2$  为 0.993 83, 交互验证均方根偏差 RMSEC 为 0.087 5, 预测均

方根偏差 RMSEP 为 0.172, 见图 4。

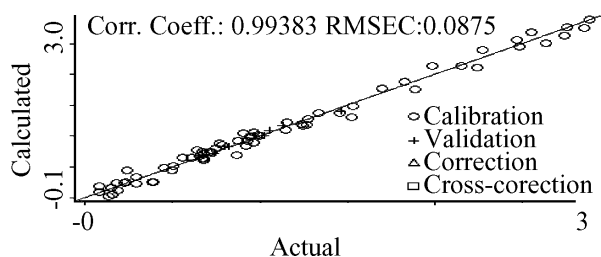


图 4 训练集预测值与参考值之间的相关图

**3.4 模型的验证** 将 HPLC 测定值做为参考值, 用近红外预测值与参考值的相对误差来衡量模型的预测能力。如表 3 所示, 8 批预测集样本的相对误差均不超过 5%。

表 3 8 批预测集样本的近红外模型预测值

No.	参考值	预测值	绝对误差	相对误差/%
j5	1.052 4	1.081 4	0.029	2.755 6
j10	0.823 3	0.824 1	0.000 8	0.097 2
j17	0.736 8	0.720 7	0.016 1	2.185 1
j22	1.023 6	1.007 8	0.015 8	1.543 6
j27	1.134 6	1.170 5	0.035 9	3.164 1
j32	0.668 5	0.693 9	0.025 4	3.799 6
j38	1.461 9	1.399	0.062 9	4.302 6
J8	0.799 4	0.829 8	0.030 4	3.802 9

#### 4 讨论

光谱预处理在 NIR 分析中是十分必要的, 运用合理的光谱预处理方法可提高模型的预测精度和稳定性<sup>[10-11]</sup>。实验中我们采用了多元散射校正、标准归一化法、一阶导数、二阶导数法对模型的影响, 结果发现多元散射结合二阶导数法比较好。而且光谱谱段的选择对其影响也比较大, 经过反复的实验对比, 最终选择  $4\ 186.14 \sim 6\ 830.05\ \text{cm}^{-1}$  为最佳建模波段。

本实验曾对粉碎粒度进行过筛选, 结果发现过 40, 60, 80, 100 目的药材粉末中, 粒度越小, 近红外的 RSD 图谱越好, 即过 100 目的重复性最好, 但是考虑到生地黄中多糖的含量比较多, 过 100 目筛不容易操作, 而且也不易保存, 故选用 80 目。

实验所取样品均为焦作产地黄, 根据现在怀地

黄产区主要种植品种为北京系列和温 85-5, 我们所取得样品中也以北京 1 号和温 85-5 居多, 还有少量的沁怀 1 号、生津 1 号、9302 和红薯王等品种, 以期能全面的概括道地产区的样品特征, 建立出适应性更广泛的近红外模型。

实验结果表明, 近红外光谱法可以准确快速的测定出道产区生地黄药材中的梓醇的含量。本模型的校正集相关系数可以达到 0.99, 可见用近红外方法可以建立相关度很高的梓醇的定量模型, 但是还需要加大样品量如加入沁阳和博爱的样品来完善道地产区的模型。

#### [参考文献]

- [1] 饶伟文. 六味地黄丸与道地药材[J]. 中医杂志, 2007, 48(2): 189.
- [2] 赵宇, 温学森, 武卫红. 地黄不同炮制品中梓醇含量分析现状[J]. 中国药学杂志, 2007, 42(7): 486.
- [3] 中国药典. 一部[S]. 2005: 83.
- [4] 中国药典. 一部[S]. 2010: 115.
- [5] 雷敬卫, 白雁, 樊克锋. NIR 和 HPLC 指纹图谱在熟地黄饮片质量稳定性考察中的对比研究[J]. 中国中药杂志, 2008, 33(18): 2052.
- [6] 白雁, 贾永, 王东, 等. 应用近红外漫反射光谱技术测定酒炖熟地黄中的还原糖含量[J]. 中药材, 2006, 29(10): 1035.
- [7] 倪慕云, 边宝林. 地黄化学成分的研究概况[J]. 中国中药杂志, 1989, 14(7): 425.
- [8] 王太霞, 李景原, 胡正海. 地黄的形态结构与化学成分研究进展[J]. 中草药, 2004, 35(5): 585.
- [9] 李岩梅, 国警月, 陈庆先, 等. 近红外漫反射光谱法非破坏分析颠茄粉末药品质量[J]. 生命科学仪器, 2009, 8(2): 50.
- [10] 孙丽英, 杨天鸣, 王云英. 不同产地黄柏的近红外指纹图谱鉴别分析[J]. 计算机与应用化学 2008, 25(3): 329.
- [11] 朱向荣, 史新元, 张卓勇, 等. SPXY 样本划分法及蒙特卡罗交叉验证结合近红外光谱用于橘叶中橙皮苷的含量测定[J]. 光谱学与光谱分析, 2009, 29(4): 963.

[责任编辑 顾雪竹]