

# NIRS 结合 TQ 软件建立银黄颗粒中绿原酸定量模型

白雁<sup>1</sup>, 张威<sup>1</sup>, 龚海燕<sup>1</sup>, 樊克峰<sup>2</sup>, 李珊<sup>1</sup>

(1. 河南中医学院, 郑州 450008; 2. 郑州牧力高等专科学校, 郑州 450001)

[摘要] 目的: 利用近红外漫反射光谱(NIRS)结合 TQ 软件快速测定银黄颗粒中绿原酸含量。方法: 采集不同厂家银黄颗粒样品的近红外漫反射光谱, 采用 HPLC 法测定其绿原酸含量, 结合 TQ 软件建立绿原酸定量校正模型, 进而对待测样品进行分析。结果: 所建绿原酸定量校正模型的相关系数( $R^2$ )、校正均方差(RMSEC)和内部交叉验证均方差(RMSECV)分别为 0.995, 0.123 和 0.412; 经外部验证, 模型的预测相关系数( $r^2$ )和预测均方差(RMSEP)分别为 0.984, 0.166。结论: 该模型适用于不同厂家银黄颗粒中绿原酸含量的直接测定, 操作简便, 无污染, 结果准确可靠, 可实现大批量样品的快速分析。

[关键词] 近红外光谱; TQ 软件; 绿原酸; 银黄颗粒

[中图分类号] R284.1 [文献标识码] B [文章编号] 1005-9903(2010)07-0035-03

## Quantitative Model for Chlorogenic Acid in Yinhuang Granules by NIRS Combined with TQ Software

BAI Yan<sup>1\*</sup>, ZHANG Wei<sup>1</sup>, GONG Hai-yan<sup>1</sup>, FAN Ke-feng<sup>2</sup>, LI Shan<sup>1</sup>

(1. Henan University of Traditional Chinese Medicine, Zhengzhou 450008, China;

2. Zhengzhou College of Animal Husbandry Engineering, Zhengzhou 450001, China)

**[Abstract] Objective:** To determine the chlorogenic acid in Yinhuang granules by near-infrared spectroscopy(NIRS) combined with TQ software. **Method:** The near-infrared spectra and HPLC values of the chlorogenic acid in Yinhuang granules from different pharmaceutical factories were collected, and the quantitative calibration model was established with the TQ software. And then, the prediction samples were analyzed by the model. **Result:** The correlation coefficients( $R^2$ ), the root-mean-square error of calibration(RMSEC) and the root-mean-square error of cross-validation(RMSECV) of the quantitative calibration model for chlorogenic acid were 0.995, 0.123 and 0.412 respectively; the correlation coefficients of prediction( $r^2$ ) and the root-mean-square error of prediction(RMSEP) were 0.984 and 0.166. **Conclusion:** The model was applied for the directed determination of chlorogenic acid in Yinhuang granules. The method is simple, non-polluted and accurate, and could be applied for the fast determination of Yinhuang granules quantities.

**[Key words]** nearinfrared spectroscopy; TQ software; chlorogenic acid; Yinhuang granules

银黄颗粒是由黄芩提取物和金银花提取物加工制成的复方制剂, 具有清热、解毒、消炎的功效, 是治

疗急慢性扁桃体炎、急慢性咽喉炎、上呼吸道感染等的常用药物, 已收录于 2010 年版《中国药典》<sup>[1]</sup>。绿原酸含量作为银黄颗粒质量控制的一个重要指标, 常规的含量测定方法为高效液相色谱法<sup>[2]</sup>, 但该方法分析耗时长、操作繁琐, 并且消耗试剂、污染环境。

近红外光谱技术是近年来新兴起的一种绿色分析技术, 具有操作简便、快速、无损、无污染, 可实现在线控制等优势, 在中药及其制剂领域的应用日益增多<sup>[3-6]</sup>。本实验采用近红外光谱(NIRS)与 TQ 软

[收稿日期] 20100421(004)

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

[通讯作者] \* 白雁, 教授, 博士研究生导师, 研究方向利用现代分析手段对中药品质进行分析和评价, Tel: (0371) 65962967; E-mail: white\_yan@hotmail.com

件相结合的方法, 建立近红外定量校正模型直接测定银黄颗粒中绿原酸含量, 为银黄颗粒的质量评价提供一种快速、简便的检测方法。

### 1 仪器与试剂

美国 Thermo Nicolet 6700 型傅立叶变换近红外光谱仪(配有漫反射积分球附件、OMNIC 光谱采集软件和 TQ8.0 分析软件); 美国 Agilent 1200 型高效液相色谱仪(配有 DAD 检测器); 瑞士 METTLER AE240 型电子天平(十万分之一); 昆山 HS-6150 超声波清洗仪(500 W, 40 KHZ)。

乙腈、甲醇为色谱纯, 水为双蒸水, 其余均为分析纯。样品为 18 个不同厂家生产的 100 批银黄颗粒制剂(辅料为蔗糖和淀粉), 绿原酸对照品购于中国药品生物制品检定所(批号 110753-200413, 供含量测定用)。

### 2 方法

**2.1 近红外漫反射光谱采集** 将 100 份样品研碎过 80 目药典筛, 每份样品取约 8g, 混合均匀后放入石英样品旋转杯中, 在  $4\ 000 \sim 12\ 000\ \text{cm}^{-1}$  谱区范围内, 扫描 32 次, 分辨率为  $8\ \text{cm}^{-1}$ ; 环境温度  $(25 \pm 2)$ , 相对湿度 45% ~ 50%。为消除样品均匀性不一致等因素的影响, 每份样品重复装样扫描 3 次求平均图谱, 见图 1。

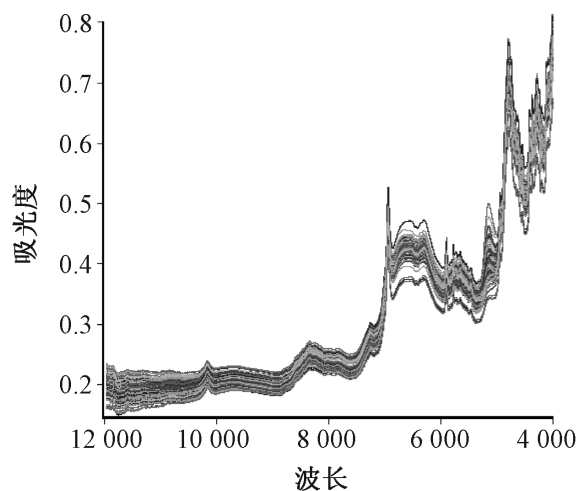


图 1 100 份样品的近红外光谱图

**2.2 绿原酸含量 HPLC 分析** 参照 2010 年版《中国药典》规定的方法测定。本实验采用的色谱条件: Dikma Diamonsil C<sub>18</sub> 分析柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm), 流动相为甲醇-0.4% 磷酸(10:90); 检测波长 327 nm; 进样体积 20 μL; 流速  $1\ \text{mL} \cdot \text{min}^{-1}$ ; 柱温 30。以保留时间定性, 峰面积定量, 外标法计算。每份样品平行作两次, 求平均值, 100 份样品绿原酸含量范围为  $0.401 \sim 5.714\ \text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ , 且分布比较均匀。

**2.3 建立近红外定量校正模型的方法** 根据银黄

颗粒样品集中绿原酸含量分布, 按照 4:1 的比例划分为校正集和验证集, 确保所选验证样品集更具代表性, 且含量范围处于校正样品集含量范围之内<sup>[7]</sup>, 见表 1。利用 TQ 8.0 软件对样品光谱进行处理, 采用偏最小二乘法(PLS)对校正集样品建立校正模型, 同时作交叉验证, 并用验证集样品进行外部验证, 再根据近红外定量校正模型的主要参数确定最优模型。

最优近红外定量校正模型根据模型相关系数( $R^2$ )、校正均方差(RMSEC)、内部交叉验证均方差(RMSECV)、预测相关系数( $r^2$ )和预测均方差(RMSEP)等参数即可确定。对于同一样品集所构建的近红外定量校正模型来说, 相关系数越大、均方差越小, 表明所建模型适用性越强、预测效果越好。

表 1 校正集和验证集中绿原酸含量分布 / $\text{g} \cdot \text{mg}^{-1}$

| 样品集 | 样品数 | 最小值   | 最大值   | 平均值   | 标准差   |
|-----|-----|-------|-------|-------|-------|
| 校正集 | 80  | 0.401 | 5.714 | 2.228 | 1.186 |
| 验证集 | 20  | 0.624 | 4.691 | 2.048 | 1.211 |

### 3 结果与分析

**3.1 绿原酸定量校正模型的建立** 光谱预处理方法、建模谱区和主成分数是建立优秀近红外定量校正模型的关键。合适的光谱处理方法<sup>[8]</sup>, 可以消除样品状态、测量条件等差异造成的噪声、光谱基线漂移和不重复性等影响, 改善模型性能; 恰当的建模谱区<sup>[9]</sup>和最佳主成分数<sup>[10]</sup>可以提取光谱有用信息, 避免冗余信息, 提高模型适用性和预测性能。采用 TQ 8.0 软件对 NIR 光谱进行全面分析, 以 2.3 项下的近红外定量模型参数为依据, 最终确定对 NIR 光谱进行多元散射校正(MSC) + 一阶导数(FD)处理, 在  $8\ 827.96 \sim 4\ 016.55\ \text{cm}^{-1}$  谱区范围内选择前 14 个主成分确立了最优定量校正模型, 见图 2。该校正模型的内部交叉验证相关系数( $R^2$ )为 0.995, 校正均方差(RMSEC)为 0.123, 内部交叉验证均方差(RMSECV)为 0.412, 结果表明所建模型性能较好。

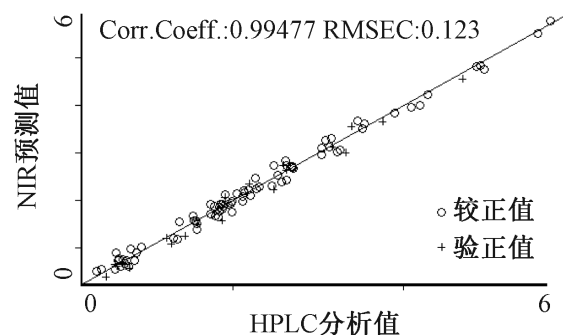


图 2 银黄颗粒中绿原酸定量校正模型

**3.2 绿原酸定量校正模型的外部验证** 为评价模

型的实际预测效果, 将验证集样品的近红外光谱代入模型中, 并将所得 NIR 预测值与 HPLC 分析值做相关分析。模型的预测精度主要通过预测  $r^2$  和 RMSEP 2 个参数来评价, 计算公式如下:

$$r^2 = \frac{Cov(C_i, C_i)}{C_i, C_i} \quad (1)$$

$$RMSEP = \frac{\sum_{i=1}^n C_i - C_i}{n} \quad (2)$$

式中:  $C_i$  为 NIR 预测值,  $C_i$  为 HPLC 分析值,  $n$  为预测集样品的数量。

从表 3 可以看出, 20 份样品的 NIR 预测值与 HPLC 分析值比较接近, 预测  $r^2$  达到了 0.984, 预测 RMSEP 仅为 0.166。结果表明, 该模型可用于银黄颗粒中绿原酸成分的定量分析。

表 2 验证集样品绿原酸含量的 NIR 预测

| No. | HPLC<br>/mg · g <sup>-1</sup> | NIR<br>/mg · g <sup>-1</sup> | $r$   | RMSEP |
|-----|-------------------------------|------------------------------|-------|-------|
| 1   | 0.624                         | 0.650                        |       |       |
| 2   | 0.633                         | 0.613                        |       |       |
| 3   | 0.646                         | 0.623                        |       |       |
| 4   | 0.709                         | 0.660                        |       |       |
| 5   | 0.792                         | 0.573                        |       |       |
| 6   | 1.222                         | 1.209                        |       |       |
| 7   | 1.277                         | 1.084                        |       |       |
| 8   | 1.438                         | 1.245                        |       |       |
| 9   | 1.595                         | 1.495                        |       |       |
| 10  | 1.872                         | 1.576                        | 0.984 | 0.166 |
| 11  | 1.91                          | 42.071                       |       |       |
| 12  | 2.200                         | 2.362                        |       |       |
| 13  | 2.484                         | 2.223                        |       |       |
| 14  | 2.595                         | 2.749                        |       |       |
| 15  | 2.631                         | 2.648                        |       |       |
| 16  | 3.169                         | 3.125                        |       |       |
| 17  | 3.318                         | 3.001                        |       |       |
| 18  | 3.391                         | 3.553                        |       |       |
| 19  | 3.760                         | 3.670                        |       |       |
| 20  | 4.691                         | 4.551                        |       |       |

#### 4 讨论

收集足够多、有代表性的样品集是建立优秀 NIR 定量校正模型的基础。实验所选用的 100 份银黄颗粒样品, 绿原酸含量覆盖范围广, 且分布比较均

匀, 具有一定的代表性。

不同的建模条件对校正模型的性能会有很大的影响, 选择合适的光谱处理方法、恰当的建模谱区和最佳主成分数对建立优秀的 NIR 定量校正模型至关重要。

实验将 NIR 光谱与 TQ 软件相结合, 采用偏最小二乘法(PLS)建立了不同厂家银黄颗粒中绿原酸成分含量的近红外定量校正模型。该模型相关系数( $R^2$ )、校正均方差(RMSEC)和内部交叉验证均方差(RMSECV)分别为 0.995、0.123 和 0.412; 预测相关系数和预测均方差分别为 0.984、0.166。研究结果表明, 该方法可以快速、准确测定银黄颗粒中绿原酸含量, 并且操作简便、无污染, 为银黄颗粒的质量评价提供一种新的检测方法。

#### [参考文献]

[ 1 ] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典[ S ]. 一部. 北京: 中国医药科技出版社, 2010: 1084.

[ 2 ] 王彩芳, 黄龙, 程茜, 等. 高效液相色谱法测定不同厂家银黄颗粒中绿原酸的含量[ J ]. 时珍国医国药, 2007, 18( 5 ): 1143.

[ 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 ] 白雁, 李艳英. 近红外光谱法快速分析不同厂家的一清颗粒[ J ]. 中国中药杂志, 2008, 33( 20 ): 2413.

[ 5 ] 宋丽丽, 徐晓杰, 范丙义, 等. 近红外光谱法测定六味地黄丸中丹皮酚[ J ]. 中草药, 2005, 36( 8 ): 1174.

[ 6 ] 覃锋, 杨辉华, 吕琳昂, 等. NIR 光谱结合 LLE-PLS 建模用于安神补脑液提取过程分析的研究[ J ]. 中成药, 2008, 30( 10 ): 1465.

[ 7 ] 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.

[ 8 ] 薛丽红, 杨林章. 基于可见近红外高光谱的菠菜硝酸盐快速无损测定研究[ J ]. 光谱学与光谱分析, 2009, 29( 4 ): 926.

[ 9 ] 刘建学. 实用近红外光谱技术[ M ]. 北京 科学出版社, 2007: 2.

[ 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, 2007: 44.

[责任编辑 顾雪竹]