

· 质量分析研究 ·

近红外光谱法快速测定浙麦冬中麦冬总皂苷的含量

陈雪怡¹, 杜伟锋¹, 蔡宝昌^{1,2}, 丛晓东¹, 葛卫红¹ (1. 浙江中医药大学中药炮制技术研究中心, 浙江 杭州 311401; 2. 南京中医药大学江苏省中药炮制重点实验室, 江苏 南京 210049)

摘要: **目的** 采用近红外光谱法对浙麦冬中麦冬总皂苷含量进行快速测定。**方法** 利用紫外分光光度法测定样品中麦冬总皂苷的含量, 运用偏最小二乘(PLS)法建立其含量与近红外光谱(NIR)之间的多元校正模型, 对未知样品进行含量预测。**结果** 建立的麦冬总皂苷校正模型相关系数(R)、校正均方差(RMSEC)分别为 0.99031, 0.0235。经外部验证, 校正模型的预测均方差(RMSEP)为 0.0361, 预测值与真实值的相关系数达 0.9957。**结论** 此方法具有快速简便, 准确无损的特点, 可以应用于浙麦冬中麦冬总皂苷含量的快速检测。

关键词: 近红外光谱技术; 浙麦冬; 麦冬总皂苷; 快速测定

中图分类号: R284.1 **文献标志码:** A **文章编号:** 1003-9783(2013)01-0085-04

doi: 10.3969/j.issn.1003-9783.2013.01.023

Rapid Determination of Total Saponins of Radix Ophiopogonis from Zhejiang Province by Nearinfrared Spectroscopy

CHEN Xueyi¹, DU Weifeng¹, CAI Baochang^{1,2}, CONG Xiaodong¹, GE Weihong¹ (1. Research Center of Chinese Medicine Processing Technology, Zhejiang University of Traditional Chinese Medicine, Hangzhou 311401 Zhejiang, China; 2. Jiangsu Key Laboratory of Chinese Medicine Processing, Nanjing University of Traditional Chinese Medicine, Nanjing 210029 Jiangsu, China)

Abstract: **Objective** To develop a nearinfrared quantitative method for the rapid determination of total saponins of Radix Ophiopogonis from Zhejiang Province. **Methods** Ultraviolet spectrophotometry was used as a reference method to determine the content of total saponins of Radix Ophiopogonis from Zhejiang Province. Multivariate calibration model based on partial least square(PLS)algorithm was developed to correct the spectra and the corresponding values determined by the reference method. **Results** The correlation coefficient (R) and the root-mean-square error of calibration (RMSEC) of the calibration model for total saponins were 0.99031 and 0.0235, respectively. The root-mean-square error of prediction(R-MSEP) was 0.0361 after external calibration, and the correlation coefficient of the determined value and predicted value was 0.9957. **Conclusion** The method is fast, convenient, accurate and lossless, and the corrected model is suitable for rapidly predicting the total saponins of Radix Ophiopogonis from Zhejiang Province.

Keywords: Nearinfrared spectrum; Radix Ophiopogonis from Zhejiang Province; Total saponins of Radix Ophiopogonis; Rapid determination

麦冬为百合科沿阶草属植物麦冬 *Ophiopogon japonicus* (L.f) Ker-Gawl. 的干燥块根, 具有养阴生津、润肺清心之功效, 主治肺燥干咳、津伤口渴等症。麦

冬主产于浙江和四川, 其中, 浙江产麦冬称为浙麦冬, 品质优, 为著名的浙八味道地药材之一。麦冬主要化学成分为甾体皂苷、高异黄酮类、多糖、氨基酸

收稿日期: 2012-09-19

作者简介: 陈雪怡, 女, 硕士研究生, 研究方向: 中药炮制及质量和标准研究。Email: cxy.1986@163.com。

基金项目: 卫生部科学研究基金(WKJ2010-2-019); 浙江省中医药科学研究基金计划(2012ZB032)。

等^[1], 麦冬总皂苷为麦冬的主要有效活性成分之一, 具有抗心肌缺血、抗菌, 保护 H_2O_2 所致的血管内皮细胞损伤等作用^[2-4]。《中国药典》2010 年版收录的麦冬总皂苷含量测定方法为紫外分光光度法^[5], 其分析过程十分繁琐, 样品要经过一系列提取、萃取、过滤等的前处理, 费时费力, 同时, 这种样品前处理过程往往会导致所分析及所需成分的损失, 使得最终结果的准确度和精密度受到影响, 被处理样品也因为处理破坏及化学污染无法继续使用。近红外光谱法是一种新型的绿色分析技术^[6], 在农业食品、制药工业等领域得到了广泛应用^[7], 该法不需对样品进行复杂的预处理, 可直接进行测试, 具有方便、快速、无污染等优点^[8]。本实验以浙麦冬为主要研究对象, 运用近红外光谱法, 测定其中麦冬总皂苷的含量, 形成了一种快速无损、高效简捷的中药有效成分含量测定的新方法。

1 仪器与试药

1.1 仪器 UV-2450 紫外分光光度计(日本岛津仪器公司); XS-105 电子分析天平(0.01 mg, 瑞士 METTLER TOLEDO 公司); 电热恒温水浴锅(嘉兴市中新医疗仪器有限公司); Antaris 傅立叶变换近红外光谱仪, 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)。

1.2 试药 鲁斯可皂苷元对照品, 中国食品药品鉴定研究所, 批号: 111909-201103; 甲醇、正丁醇、氨水、高氯酸为分析纯; 水为娃哈哈纯净水。浙麦冬饮片, 分别从浙江省内不同产地收集, 共 117 批, 经浙江中医药大学中药饮片有限公司郑建宝主管中药师鉴定为百合科植物麦冬 *Ophiopogon japonicus* (L.f) Ker-Gawl. 的干燥块根的饮片。

2 方法与结果

2.1 近红外光谱的采集 将样品研碎过 80 目筛, 每份样品取约 10 g, 混合均匀后放入石英样品杯中, 摊平, 然后以空气为参比, 扣除背景, 采集光谱图。采样方式: 积分球漫反射; 采集区间: 4000~10000 cm^{-1} ; 分辨率 8.0 cm^{-1} ; 扫描次数 64 次; empty 门衰减; 增益为 1; 温度(25±2)℃, 相对湿度 45 %~50 %。每份样品扫描 3 次, 求平均值作为样品的近红外光谱(NIR), 见图 1。

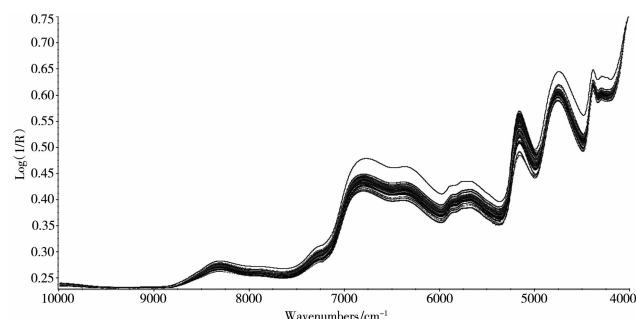


图1 117 批浙麦冬样品的近红外光谱图

Figure 1 The near infrared spectrograms of 117 batches of Radix Ophiopogon samples from Zhejiang province

图 1 中表明不同批次的浙麦冬红外谱图极为相似, 谱带复杂, 且相互重叠。故根据此图无法判定麦冬总皂苷含量与个别波长点吸光度之间的相关性, 必须在一定波段内利用化学计量学方法, 建立其数学模型, 才能确定麦冬总皂苷含量与光谱间的关系。

2.2 紫外分光光度法测定麦冬总皂苷的含量 根据《中国药典》2010 年版一部, 测定 117 批浙麦冬中麦冬总皂苷含量范围为 0.2684 %~1.0772 %, 均符合《中国药典》对麦冬中麦冬总皂苷含量的要求。

2.3 建立模型方法 运用 TQ 分析软件进行数据处理, 选择多元信号校正(MSC)以解决基线漂移, 进行了偏最小二乘法(PLS)和主成分回归法(PCR)建模算法的比较。结果表明 PLS 所建立的模型优于 PCR 法, 故选定采用 PLS 法建立定量校正模型。以相关系数(R)和校正均方差(RMSEC)为指标选择建模参数和优化模型结构, 以预测均方差(RMSEP)来考察模型的预测性能和推广能力。

2.4 处理方法选择 采用不同的预处理方法建立校正模型, 所得结果见表 1。

表 1 浙麦冬粉末经过不同预处理方法后建模的统计结果

Table 1 Modeling Results of Radix Ophiopogonis of Zhejiang by different pretreatment methods

预处理方法	R	RMSEC	RMSEP	factors	PI
Constant	0.73144	0.115	0.0548	7	75.8
MSC	0.84103	0.0915	0.166	4	26.9
SNV	0.77481	0.107	0.0621	7	72.6
MSC+no smooth(一阶导数)	0.84103	0.0915	0.0166	4	26.9
MSC+SG(一阶导数)	0.88709	0.0843	0.0537	9	79.3
MSC+ND(一阶导数)	0.99031	0.0235	0.0361	10	84.1
MSC+SG(二阶导数)	0.90998	0.0589	0.0932	8	66.4
MSC+ND(二阶导数)	0.76731	0.108	0.0574	6	74.7

根据R、RMSEC、RMSEP、PI 数值比较，在所选择的 3 谱段范围内，采用MSC+ND(一阶导数)预处理方法建模。

2.5 波段选择 以相关系数(R)和校正均方差(RMSEC)为指标，不断优化谱段范围，最终选择多谱段建模，分别为波段选择 7902.86~7413.03 cm⁻¹，9391.63~9025.22 cm⁻¹，9628.48~9557.48 cm⁻¹。

2.6 因子数选择 建立模型时，所选的主因子数对预测结果有较大影响。如果 PLS 所用的因子数太少，光谱中一些有用的信息尚未被包含而导致模型预测能力欠佳；反之，选择的因子数过多，则出现过拟合现象影响其结果。采用内部验证法，根据内部交叉验证均方差（RMSECV）随主因子数的变化图（图 2），本文主因子数选择为 10。

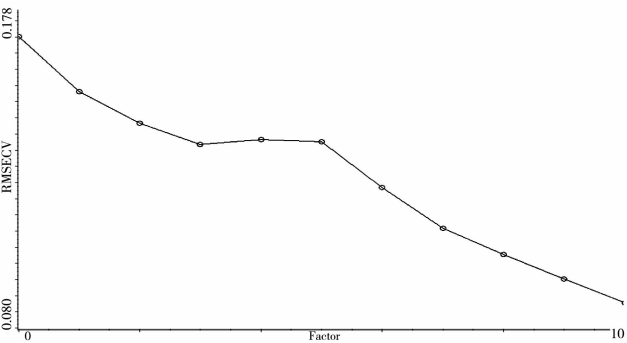


图2 因子数图
Figure 2 Number of factors

2.7 模型建立 从样品中选取 87 个为标准样本集，4 个为验证集。运用 PLS 法建立麦冬样品的定量校正模型，建模因子数为 10。结果如图 3 所示，相关系数为 0.99031，RMSEC 为 0.0235。4 个内部验证集样品的真实值、预测值、误差及相对误差的结果如表 2 所示。

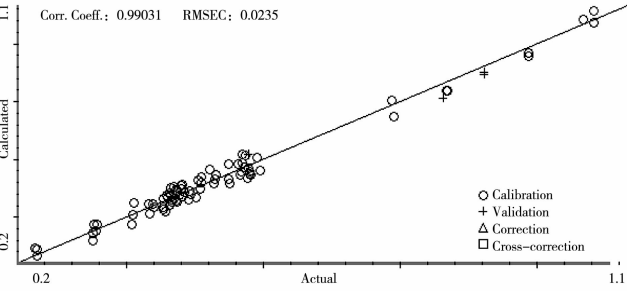


图3 PLS 建模结果
Figure 3 The result of PLS calibration mathematics model

表 2 内部验证结果
Table 2 The result of interior validation

序号	样品编号	实测值/%	预测值/%	绝对误差/%	相对误差/%
1	70	0.5781	0.5792	0.0011	0.19
2	98	0.8621	0.8503	0.0118	1.37
3	107	0.9232	0.9030	0.0202	2.19
4	109	0.9227	0.8953	0.0274	2.97

2.8 外部验证 选择 26 批样品进行外部验证，以检验模型。预测值与真实值之间建立回归方程，回归方程为 $Y=0.9919X+0.0103$ ，预测值与真实值的相关系数达 0.9957，结果表明建立的模型性能较好，RMSEP 为 0.0361，见表 3。

表 3 外部验证结果
Table 3 The result of exterior validation

序号	样品编号	实测值	预测值	绝对误差	相对误差/%
1	2	0.5679	0.5575	0.0104	1.83
2	7	0.4542	0.4651	0.0109	2.39
3	10	0.4659	0.4622	0.0037	0.79
4	14	0.5485	0.5832	0.0347	6.36
5	19	0.4795	0.5087	0.0292	6.09
6	27	0.4596	0.4672	0.0076	1.65
7	33	0.5305	0.5455	0.0150	2.83
8	35	0.4920	0.4897	0.0023	0.47
9	28	0.4382	0.4637	0.0255	5.81
10	31	0.4395	0.4339	0.0056	1.27
11	42	0.4797	0.4997	0.0200	4.17
12	44	0.2693	0.2878	0.0185	6.87
13	47	0.3501	0.3446	0.0055	1.57
14	54	0.5802	0.5519	0.0283	4.88
15	62	0.5039	0.5293	0.0254	4.99
16	67	0.5775	0.5705	0.0070	1.21
17	71	0.5723	0.5727	0.0004	4.13
18	79	0.4812	0.4715	0.0097	0.06
19	90	0.4705	0.4742	0.0037	0.78
20	94	0.7869	0.8034	0.0165	2.09
21	99	0.8683	0.8385	0.0298	3.43
22	108	0.9867	0.9584	0.0283	2.87
23	110	0.5075	0.4965	0.0110	2.17
24	111	0.5090	0.5393	0.0303	5.95
25	115	1.0664	1.0849	0.0185	1.73
26	117	1.0831	1.1162	0.0331	3.06

3 讨论
中药质量的稳定均一性难以保证一直是中药现代化的障碍，实现中药质量控制的在线化将很大程度上改变这一现状。因此，指标性成分的快速分析是中药

发展的重要目标。NIR 技术由于快速、无损的特点,适合于大批量、快速检测中药材。本实验利用偏小二乘法建立了浙麦冬中麦冬总皂苷的定量校正模型,相关系数 0.99031,校正均方差为 0.0235,外部验证均方差为 0.0361。该模型可用于浙麦冬中麦冬总皂苷含量的快速测定,而且,本方法具有快速、准确、分析对象多样且无须预处理的独特优点,建立数学模型,可以作为中药材浙麦冬饮片生产过程即时分析和在线控制的手段。

参考文献:

- [1] 王庆慧,李锐,王金辉. 麦冬化学成分研究[J]. 中国现代中药, 2009, 11(11): 21-22.
- [2] 程金波,卫洪昌,沈章,等. 麦冬提取物抗犬心肌缺血的药效实验[J]. 中国病理生理杂志, 2001, 17(8): 810.
- [3] 孙麒,巨勇,赵玉芬. 具有生物活性的甾体皂苷[J]. 中草药, 2002, 33(3): 276-280.
- [4] 范俊,张晓燕,龚婕宁,等. 麦冬正丁醇提取物对血管皮内细胞损伤的影响[J]. 中医药学刊, 2005, 24(5): 816-817.
- [5] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(一部)[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2010: 144.
- [6] 褚小立,袁洪福,陆婉珍. 近年来我国红外分析光谱技术的研究与应用进展[J]. 分析仪器, 2006, (2): 1-10.
- [7] 王丹,卜海博,李向日. 红外光谱技术在中药炮制研究中的应用与展望[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(7): 269-271.
- [8] 严衍禄. 近红外光谱分析基础与应用[M]. 北京: 中国轻工业出版社, 2005: 78-79, 236-240.

(编辑: 宋威)

HPLC 法同时测定多穗柯提取物中 4 种黄酮苷类成分的含量

赵 亚¹, 金弘昕¹, 黄 松^{1, 2}, 赖小平^{1, 2} (1. 广州中医药大学新药开发研究中心, 广东 广州 510006; 2. 东莞广州中医药大学中医药数理工程研究院, 广东 东莞 523808)

摘要: **目的** 建立多穗柯提取物中根皮苷、3-羟基根皮苷、槲皮苷、山奈酚-3-O- α -L-鼠李糖苷的含量测定方法。**方法** 采用 HPLC 法, Dikma PLATISIL TM-C₁₈ 色谱柱(250×4.6 mm, 5 μ m); 流动相为甲醇(A)-0.2% 磷酸水溶液(B), 梯度洗脱(0~10 min, 35%A→40%A; 10~40 min, 40%A→80%A), 流速: 0.8 mL·min⁻¹; 柱温: 室温 25℃; 检测波长: 260 nm。**结果** 根皮苷、3-羟基根皮苷、槲皮苷、山奈酚-3-O- α -L-鼠李糖苷的线性范围分别为 0.14~2.91 μ g($r=0.9998$), 0.82~16.48 μ g($r=0.9994$), 0.06~1.22 μ g($r=0.9999$), 0.05~0.98 μ g($r=0.9999$); 平均回收率分别为 100.4%, 99.5%, 98.2%, 97.3%($n=6$)。**结论** 该方法准确、简便, 具有良好的重复性和稳定性, 适合于多穗柯提取物中 4 种黄酮苷的含量测定。

关键词: 多穗柯; 根皮苷; 3-羟基根皮苷; 槲皮苷; 山奈酚-3-O- α -L-鼠李糖苷; 高效液相色谱法

中图分类号: R284.1 **文献标志码:** A **文章编号:** 1003-9783(2013)01-0088-04

doi: 10.3969/j.issn.1003-9783.2013.01.024

Simultaneous Determination of Four Flavonoid Glycosides in Extracts of Folium Lithocarpi Polystachyi by HPLC

ZHAO Ya¹, JIN Hongxin¹, HUANG Song^{1, 2}, LAI Xiaoping^{1, 2} (1. New Drug R&D Center, Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510006, China; 2. Dongguan Mathematic and Theoretic Engineering Academy of Chinese Medicine, Guangzhou University of Chinese Medicine, Dongguan 523808 Guangdong, China)

Abstract: Objective To develop a method for simultaneous determination of phloridzin, 3-hydroxyl phloridzin, quercetin, kaempferol-3-O- α -L-rhamnoside in the water extract of Folium Lithocarpi Polystachyi. **Methods** HPLC method was adopted. The analysis was performed on a Dikma PLATISIL TM-C₁₈ column (250 mm×4.6 mm, 5 μ m)

收稿日期: 2012-09-28

作者简介: 赵亚, 女, 博士研究生, 研究方向: 中药活性成分及质量控制研究。Email: wendy_zhaoya@yahoo.com.cn。通讯作者: 赖小平, 教授, 博导。研究方向: 中药新药研究与开发。Email: lxp88@gzhtcm.edu.cn。

基金项目: 广东省科技计划项目(2009A030100014; 2011B031700070)。