

近红外光谱法快速测定当归中 7 种成分的含量

雷晓晴¹, 王秀丽¹, 李 耿^{2*}, 付梅红³, 张秀荣¹, 陈芳宁¹

1. 首都医科大学附属北京世纪坛医院 临床合理用药生物特征谱学评价北京市重点实验室, 北京 100038

2. 中日友好医院, 北京 100029

3. 中国中医科学院中药研究所, 北京 100700

摘要: **目的** 应用近红外光谱 (NIRS) 技术结合偏最小二乘法 (PLS) 建立当归中多指标成分的快速无损检测方法, 以更好地控制当归药材和饮片的质量。 **方法** 采集购买不同产地的当归样品共 108 批。建立同时测定当归中 7 种成分含量的超高效液相色谱 (UPLC) 方法, 并以其测定值为参比; 以积分球漫反射模式采集当归样品的 NIRS 图; 采用 PLS 等化学计量学手段建立各指标性成分的参比值与 NIRS 图的定量校正模型。分别对建模过程的各个阶段进行优化, 包括样本集的选择、不同预处理方法和不同光谱区段的选择。 **结果** 所建立的绿原酸、阿魏酸、异绿原酸 A、藁本内酯、丁烯基苯肽、洋川芎内酯 I 和欧当归内酯 A 的模型校正集相关系数分别为 0.937 6、0.970 2、0.963 4、0.991 1、0.962 4、0.966 6 和 0.947 6; 预测均方差分别为 0.072 1、0.038 9、0.011 3、0.483 0、0.017 5、0.178 0 和 0.097 0。NIRS 模型预测值与 UPLC 测定值具有良好的线性相关关系, 模型预测效果良好。 **结论** 采用 NIRS 技术结合 PLS 可以快速对当归中绿原酸、阿魏酸、异绿原酸 A、藁本内酯、丁烯基苯肽、洋川芎内酯 I 和欧当归内酯 A 7 种成分的含量进行检测, 方法操作简便、结果可靠。

关键词: 近红外光谱; 快速测定; 当归; 绿原酸; 阿魏酸; 异绿原酸 A; 藁本内酯; 丁烯基苯肽; 洋川芎内酯 I; 欧当归内酯 A

中图分类号: R282.6 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2019)016-3947-08

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2019.16.030

Rapid determination of seven components in *Angelica sinensis* based on near infrared spectroscopy

LEI Xiao-qing¹, WANG Xiu-li¹, LI Geng², FU Mei-hong³, ZHANG Xiu-rong¹, CHEN Fang-ning¹

1. Beijing Shijitan Hospital Affiliated to Capital Medical University, Beijing Key Laboratory of Bio-characteristic Profiling for Evaluation of Rational Drug Use, Beijing 100038, China

2. China-Japan Friendship Hospital, Beijing 100029, China

3. Institute of Chinese Materia Medica, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100700, China

Abstract: **Objective** To established a rapid nondestructive determination method for the multi-marker constituents in *Angelica sinensis* by near infrared spectroscopy (NIRS) combined with the partial least squares (PLS) method in order to improve the quality control for *A. sinensis*. **Methods** A total of 108 batches of *A. sinensis* from different origins were collected for the research. An Ultra performance liquid chromatography (UPLC) method was established to measure the content of the seven components in *A. sinensis*, which were adopted as the reference value. And the integrating sphere diffuse reflection mode was employed to collect the NIR spectrum. The quantitative calibration model between the near infrared spectrum and the reference content of each component to be measured was established by PLS and other chemometrics methods. Each part of the modeling process was optimized respectively, including the selection of calibration set and validation set, different pretreatment methods and different spectral section. **Results** The correlation coefficient for calibration set of chlorogenic acid, ferulic acid, isochlorogenic acid A, ligustilide, butylidenephthalide, senkyunolide I and levistolide A were 0.937 6, 0.970 2, 0.963 4, 0.991 1, 0.962 4, 0.966 6 and 0.947 6, respectively; The root mean square error of prediction (RMSEP) were 0.072 1, 0.038 9, 0.011 3, 0.483 0, 0.017 5, 0.178 0 and 0.097 0, respectively. The predicted values of NIRS models and the measured values of UPLC showed a good linear relation, which presented a great prediction ability of the models. **Conclusion** The methods of NIRS combined with PLS can be applied for the rapid content determination of seven components in *A. sinensis* including chlorogenic acid, ferulic acid, isochlorogenic acid A, ligustilide, butylidenephthalide, senkyunolide I and levistolide A, which is proved to be simple and reliable. **Key words:** near infrared spectroscopy; rapid determination; *Angelica sinensis* (Oliv.) Diels; chlorogenic acid; ferulic acid; isochlorogenic acid A; ligustilide; butylidenephthalide; senkyunolide I; levistolide A

收稿日期: 2019-02-06

基金项目: 国家中医药行业科研专项资助 (201407003)

作者简介: 雷晓晴 (1993—), 女, 药师。E-mail: leixiaoqing1307@163.com

*通信作者 李 耿 (1978—), 男, 副主任药师。E-mail: 13810507641@163.com

当归为伞形科植物当归 *Angelica sinensis* (Oliv.) Diels 的干燥根, 为临床使用频率最高的中药之一, 素有“十方九归”之称^[1], 其性温, 味甘、辛。归肝、心、脾经, 具有补血活血、调经止痛、润肠通便的功能^[2-3]。主产于甘肃岷县、渭源、漳县等地, 在云南、四川、河北等地也有分布。当归的道地性较为显著, 道地产区比较集中, 自古以“岷归”为其道地药材^[4]。研究表明, 当归的主要活性成分主要包括水溶性的芳香酸类成分和脂溶性的苯胺类等挥发油成分。芳香酸类是当归活血、止痛的有效成分, 而苯胺类是当归活血调经的药效成分^[5]。

相关文献报道中, 当归的含量测定和质量研究多采用高效液相色谱法进行, 其精密度好、准确度高, 但需一定的提取过程, 耗时较长且成本较高, 一般只能在实验室进行。然而近年来, 近红外光谱法以其快速、无损、绿色, 无需复杂的样品预处理过程、操作简便等特点发展迅速, 在中药等复杂样品的快速定量分析^[6-9]、定性鉴别^[10-13], 产地区分^[14-16]和过程监测^[17-21]等方面已有较多应用。随着技术方法的进一步成熟, 近红外光谱法可望应用于中药材、饮片现场的快速检测, 对于有效控制中药质量具有重要意义。

本研究以绿原酸、阿魏酸、异绿原酸 A、橐本内酯、丁烯基苯胺、洋川芎内酯 I 和欧当归内酯 A 为活性成分代表, 首先建立 UPLC 方法, 同时测定不同当归样品中该 7 种成分的含量, 并在此基础上, 采集样品的近红外光谱图, 应用近红外光谱技术结合偏最小二乘法分别建立各成分的定量校正模型, 实现快速、无损地对不同产地当归中 7 种成分的定量分析。

1 仪器与材料

1.1 仪器

超高效液相色谱 (UPLC) Accuracy 系统, 包括二元超高压溶剂系统、自动进样恒温样本管理器、二极管阵列检测器、Empower 3 色谱工作站 (美国 Waters 公司); Antaris 傅里叶变换近红外光谱仪 (美国 Thermo 公司), 附带样品旋转台, 配有积分球漫反射采样系统、Result 操作软件和 TQ Analyst 光谱分析软件; NANO-pure Diamond Ro⁺纯水系统 (美国 Thermo Fisher Scientific 公司); CP225D 型电子分析天平 (德国 Sartorius 集团); KQ5200DE 型超声波仪 (江苏昆山市超声仪器有限公司)。

1.2 材料

当归药材由中国中医科学院中药资源中心采集或购买于甘肃岷县、渭源、漳县、永登、康乐以及重庆、河北等地, 共 108 个样品, 具体信息见表 1。经中国中医科学院付梅红教授鉴定为伞形科植物当归 *Angelica sinensis* (Oliv.) Diels 的干燥根。所有样品粉碎后过 65 目筛, 放入自封袋备用。

对照品绿原酸 (批号 110822-201206)、阿魏酸 (批号 110773-200611)、橐本内酯 (批号 11920-201102) 购自中国食品药品检定研究院; 异绿原酸 A (批号 130309)、洋川芎内酯 I (批号 20157-201203)、丁烯基苯胺 (批号 551-08-6)、欧当归内酯 A (批号 20143-201309) 购自南昌贝塔生物科技有限公司, 各对照品质量分数均 >98%, 符合定量测定要求。

乙腈 (色谱纯, 美国 Fisher 公司); 甲酸 (色谱纯, 德国 CNW 科技公司); 色谱用水为超纯水; 提取用甲醇 (批号 20160401, 分析纯, 北京益利精细化学品有限公司)。

2 方法与结果

2.1 UPLC 法测定当归中 7 种成分的含量

2.1.1 供试品溶液的制备 精密称取当归药材或饮片粉末约 0.4 g, 置于 150 mL 具塞锥形瓶中, 精密加入甲醇 50 mL, 称定质量, 超声处理 30 min, 放置冷却至室温, 用甲醇补足减失的质量, 摇匀, 溶液过 0.22 μm 微孔滤膜, 弃去初滤液, 续滤液作为供试品溶液。

2.1.2 对照品溶液的制备 精密称取绿原酸 1.24 mg、阿魏酸 1.87 mg、异绿原酸 A 1.09 mg、橐本内酯 13.11 mg、欧当归内酯 A 1.17 mg 至 25 mL 量瓶中, 丁烯基苯胺 4.49 mg、洋川芎内酯 I 7.12 mg 至 50 mL 量瓶中, 用甲醇溶解并稀释至刻度, 摇匀, 即得质量浓度分别为 0.049 6、0.074 8、0.043 6、0.524 4、0.046 8、0.089 8、0.142 4 mg/mL 的对照品溶液。

2.1.3 色谱条件 色谱柱: Waters Cortecs UPLC C₁₈ (10 mm×2.1 mm, 1.6 μm); 流动相为 0.5% 甲酸溶液 (A)-乙腈 (B) 系统, 梯度洗脱: 0~0.80 min, 7%~10% B; 0.80~3.50 min, 10%~25% B; 3.50~5.50 min, 25%~44% B; 5.50~8.10 min, 44%~53% B; 8.10~8.60 min, 53%~65% B; 8.60~9.60 min, 65%~68% B; 9.60~10.60 min, 68% B; 10.60~10.61 min, 68%~100% B; 10.61~11.60 min,

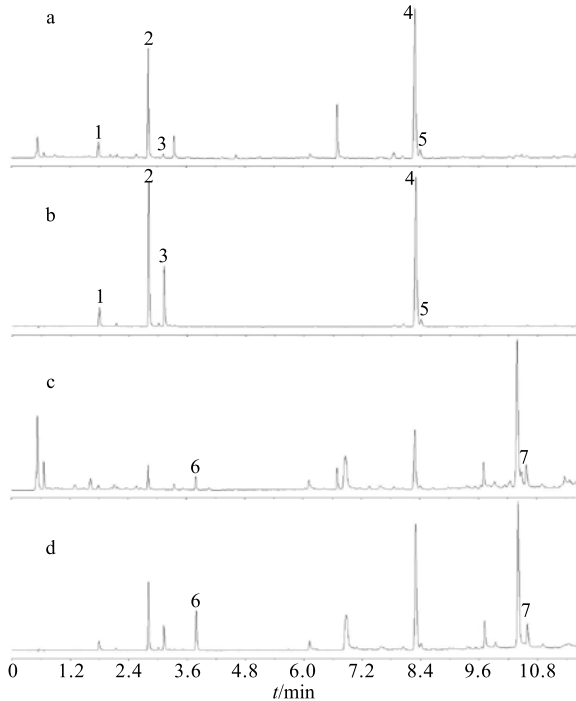
表 1 当归样品信息

Table 1 Detailed information of 108 batches of *A. sinensis* samples

编号	规格	产地	来源	编号	规格	产地	来源
1	药材	甘肃渭源	采集	55	药材	甘肃	荷花池市场
2	药材	甘肃渭源	采集	56	药材	甘肃	荷花池市场
3	药材	重庆	采集	57	药材	甘肃	荷花池市场
4	药材	甘肃渭源	采集	58	药材	甘肃	荷花池市场
5	药材	甘肃漳县	采集	59	药材	甘肃	荷花池市场
6	药材	甘肃岷县	采集	60	药材	甘肃	荷花池市场
7	药材	甘肃岷县	采集	61	药材	甘肃	荷花池市场
8	药材	甘肃康乐	采集	62	药材	甘肃	荷花池市场
9	药材	重庆城口明中	采集	63	药材	甘肃	天和公司
10	药材	甘肃永登	采集	64	药材	甘肃	天和公司
11	饮片	甘肃	购买	65	药材	甘肃	天和公司
12	药材	甘肃	购买	66	药材	甘肃	天和公司
13	药材	甘肃	购买	67	药材	甘肃	天和公司
14	药材	甘肃	荷花池市场	68	药材	甘肃	天和公司
15	药材	甘肃	荷花池市场	69	药材	甘肃	天和公司
16	饮片	甘肃	荷花池市场	70	饮片	甘肃	天和公司
17	药材	甘肃	天和公司	71	药材	甘肃	天和公司
18	药材	甘肃	天和公司	72	药材	甘肃	天和公司
19	饮片	甘肃	亳州市场	73	药材	甘肃	天和公司
20	饮片	甘肃	亳州市场	74	药材	甘肃	天和公司
21	饮片	甘肃	亳州市场	75	药材	甘肃	天和公司
22	饮片	甘肃	亳州市场	76	药材	甘肃	天和公司
23	饮片	河北	亳州市场	77	药材	甘肃	天和公司
24	饮片	河北	亳州市场	78	药材	甘肃	天和公司
25	饮片	河北	亳州市场	79	药材	甘肃	天和公司
26	饮片	河北	亳州市场	80	药材	甘肃	天和公司
27	饮片	甘肃	天和公司	81	药材	甘肃	天和公司
28	饮片	甘肃	天和公司	82	药材	甘肃	天和公司
29	饮片	甘肃	天和公司	83	药材	甘肃	天和公司
30	饮片	甘肃	天和公司	84	药材	甘肃	天和公司
31	饮片	甘肃	天和公司	85	药材	甘肃	天和公司
32	饮片	甘肃	天和公司	86	饮片	甘肃	天和公司
33	饮片	甘肃	天和公司	87	饮片	甘肃	天和公司
34	饮片	甘肃	天和公司	88	饮片	甘肃	天和公司
35	饮片	甘肃	天和公司	89	饮片	甘肃	天和公司
36	饮片	甘肃	天和公司	90	饮片	甘肃	天和公司
37	饮片	甘肃	天和公司	91	饮片	甘肃	天和公司
38	饮片	甘肃	天和公司	92	饮片	甘肃	天和公司
39	饮片	甘肃	天和公司	93	饮片	甘肃	天和公司
40	饮片	甘肃	天和公司	94	饮片	甘肃	天和公司
41	饮片	甘肃	天和公司	95	饮片	甘肃	天和公司
42	饮片	甘肃	天和公司	96	饮片	甘肃	天和公司
43	饮片	甘肃	荷花池市场	97	饮片	甘肃	亳州市场
44	饮片	甘肃	荷花池市场	98	饮片	甘肃	亳州市场
45	饮片	甘肃	荷花池市场	99	饮片	甘肃	亳州市场
46	饮片	甘肃	荷花池市场	100	饮片	甘肃	亳州市场
47	饮片	甘肃	荷花池市场	101	饮片	甘肃	亳州市场
48	饮片	甘肃	荷花池市场	102	饮片	甘肃	亳州市场
49	饮片	甘肃	荷花池市场	103	饮片	甘肃	亳州市场
50	饮片	甘肃	荷花池市场	104	饮片	甘肃	亳州市场
51	饮片	甘肃	荷花池市场	105	药材	甘肃	亳州市场
52	饮片	甘肃	荷花池市场	106	饮片	甘肃	亳州市场
53	药材	甘肃	荷花池市场	107	饮片	甘肃	北京人卫中药饮片厂
54	药材	甘肃	荷花池市场	108	饮片	甘肃	北京人卫中药饮片厂

100% B; 体积流量 0.4 mL/min; 检测波长 276 nm 和 322 nm; 进样量 2 μ L; 柱温 35 $^{\circ}$ C; 样品管理器温度 10 $^{\circ}$ C。色谱图如图 1 所示。

2.1.4 线性关系考察 依次精密量取各对照品溶液 0.80、1.00、1.50、2.00、2.50、3.00、4.00、5.00、6.00 μ L, 分别进样, 测定峰面积。以各色谱峰峰面



a-样品-322 nm b-混合对照品-322 nm c-样品-276 nm d-混合对照品-276 nm
1-绿原酸 2-阿魏酸 3-异绿原酸 A 4-藁本内酯 5-丁烯基苯肽 6-洋川芎内酯 I 7-欧当归内酯 A
a-samples-322 nm b-mixed reference substances-322 nm
c-samples-276 nm d-mixed reference substances-276 nm
1-chlorogenic acid 2-ferulic acid 3-isochlorogenic acid A
4-ligustilide 5-butylidenephthalide 6-senkyunolide I 7-levistilide A

图 1 当归药材 (a, c) 和混合对照品 (b, d) 的 UPLC 图
Fig. 1 UPLC of *A. sinensis* (a, c) and mixed reference substance (b, d)

积积分值 (Y) 对质量 (X) 进行线性回归。回归方程及线性范围见表 2。各成分的相关系数均在 0.999 1 以上, 线性关系良好。

2.1.5 精密度、重复性、稳定性考察 取同一供试品溶液, 连续进样 6 次, 每次 2 μ L, 测定各成分峰面积积分值, 作为精密度考察; 精密称取同一当归样品 6 份, 每份 0.4 g, 按照“2.1.1”项下方法制备供试品溶液, 按“2.1.3”项下色谱条件进样, 测定计算各成分的含量, 作为重复性考察; 取同一供试品溶液适量, 按上述色谱条件, 分别于 0、3、6、9、12、15、20、24 h 进样测定各成分峰面积积分值, 作为稳定性考察。结果显示, 各成分精密度的 RSD 均小于 2%, 表明仪器精密度良好; 重复性 RSD 均小于 2%, 表明方法重复性良好; 稳定性均小于 3%, 表明样品在 24 h 内稳定。

2.1.6 加样回收率试验 精密称定已测质量浓度的当归样品 6 份, 每份 0.2 g, 加入各对照品溶液适量, 按“2.1.1”项下方法制备供试品溶液, 溶液过 0.22 μ m 微孔滤膜, 弃去初滤液, 取续滤液 2 μ L 注入液相色谱仪, 按“2.1.3”项下色谱条件进样, 测定, 计算各成分的回收率。结果显示, 绿原酸、阿魏酸、异绿原酸 A、藁本内酯、丁烯基苯肽、洋川芎内酯 I、欧当归内酯 A 的回收率分别为 104.86%、102.52%、103.49%、101.51%、101.80%、102.83%、105.06%; RSD 分别为 2.03%、1.70%、1.93%、1.60%、2.10%、1.61%、1.87%; 表明方法准确度良好。

2.1.7 样品测定 取各当归样品, 按“2.1.1”项下方法制备供试品溶液, 按“2.1.3”项下色谱条件进样, 测定峰面积, 以外标一点法计算各样品中各成分的含量。

2.2 近红外光谱 (NIRS) 的采集

以 Antaris 傅里叶变换近红外光谱仪采集样品

表 2 线性关系考察

Table 2 Results of linear relation investigation

成分	线性范围/ng	回归方程	r^2
绿原酸	39.68~297.60	$Y=7\ 405.2 X-290\ 592$	1.000 0
阿魏酸	53.12~664.00	$Y=13\ 991 X-783\ 386$	0.999 9
异绿原酸 A	45.44~568.00	$Y=8\ 495.2 X-405\ 935$	0.999 9
藁本内酯	104.88~1311.00	$Y=5\ 738.7 X-520\ 574$	0.999 7
丁烯基苯肽	17.96~898.00	$Y=3\ 307 X-766\ 95$	0.999 7
洋川芎内酯 I	113.92~1 424.00	$Y=4\ 123.2 X-490\ 547$	0.999 1
欧当归内酯 A	37.44~468.00	$Y=7\ 724.3 X-160\ 116$	0.999 7

的 NIRS。取已过 65 目筛的当归药材或饮片粉末适量（尽量保证不同样品的取样量一致），混合均匀后倒入旋转杯，压实（尽量保证每次力度大小一致）。以内置背景为参比，采用积分球漫反射模式采集样品光谱图，扫描范围 $11\,000\sim3\,900\text{ cm}^{-1}$ ，扫描次数 64，分辨率 16 cm^{-1} ，温度 $(26\pm2)\text{ }^{\circ}\text{C}$ ，相对湿度 $(49\pm2)\%$ 。每份样品重复测定 2 次（第 1 次测定结束后将样品重新倒回自封袋，混合均匀后进行第 2 次测定），取平均光谱用于后续数据处理及建模以减小误差。108 批当归样品的 NIRS 图见图 2。

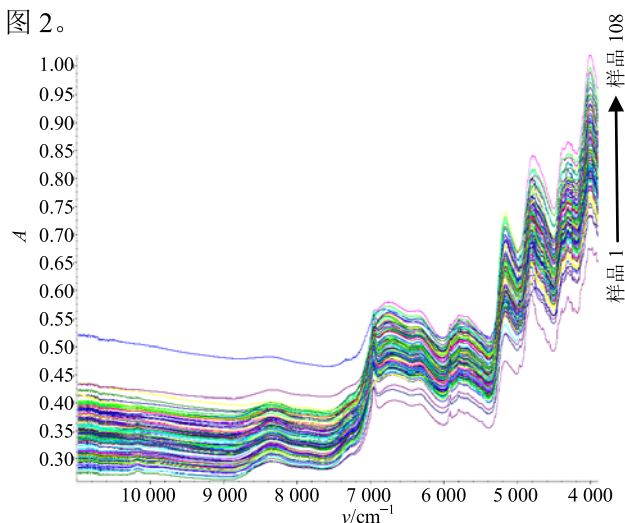


图 2 当归近红外光谱

Fig. 2 NIRS spectra of *A. sinensis*

2.3 当归中 7 种有效成分的定量校正模型的建立

采用偏最小二乘法（PLS）建立当归样品的近红外定量校正模型。建模过程以 TQ Analyst 9.1 分析软件进行。分别对样本集的选择、不同预处理方法和不同光谱区段的选择进行考察优化。以相关系数（ r ）、预测均方差（RMSEP）和留一法交叉验证均方差（RMSECV）为衡量指标^[9,22]。一般情况下，RMSEP 和 RMSECV 越小， r 越接近 1，模型的准确度和预测效果越好。但要综合考虑校正集、验证集和交叉验证的结果，且校正集和验证集相关参数相接近为宜，建立最优化模型。

2.3.1 样本集的选择 恰当的选取具有代表性的校正集是建模成功的前提，其会直接影响所建模型的准确度和适用性。本研究首先剔除差异较大的异常光谱，之后根据所测各指标性成分的含量高低均匀选取校正集和验证集，且保证验证集样品的含量范围落在校正集样品范围内^[23]。校正集与验证集样品数比例约为 2:1。各指标性成分的含量分布见表 3。

2.3.2 不同预处理方法的选择 近红外光谱易受多种噪音及外界因素和样品本身的干扰^[24-25]，影响所建定量校正模型的准确度和稳健性^[26]。为了更好地获取近红外光谱中与待测成分含量有关的特征信息，需要对原始光谱进行预处理。本研究首先通过多元散射校正（MSC）和标准正态变换（SNV）对原始光谱进行处理，以消除由于样品颗粒大小及

表 3 校正集及验证集样品中指标性成分的含量分布

Table 3 Content distribution of index components in calibration set and validation set of samples

样品组		质量分数/(mg·g ⁻¹)					
		绿原酸	阿魏酸	异绿原酸 A	藁本内酯	丁烯基苯肽	洋川芎内酯 I
校正集	最大值	1.19	1.04	0.569 1	9.72	0.98	4.71
	最小值	0.05	0.03	0	0.77	0.18	0.03
	平均值	0.35	0.58	0.062 3	5.01	0.54	1.77
验证集	最大值	1.15	0.88	0.525 6	7.96	0.89	3.23
	最小值	0.05	0.03	0.007 7	0.84	0.19	0.10
	平均值	0.35	0.63	0.054 4	5.21	0.56	1.51

分布不均而引起的光散射和光程差对光谱扫描所带来的影响。比较两者的差异，选择较佳的处理方式。之后对光谱进行求导（一阶导数、二阶导数）处理和平滑（S-G 卷积平滑、Norris 平滑）处理，以减轻基线漂移、消除随机误差、提高信噪比^[27]。采用不同预处理方式组合建模的差异，见表 4。

2.3.3 不同光谱区段的选择 选择合适的光谱区段

进行建模，对于排除大量冗余信息、精准提取待测化学成分特征、简化计算、提高分析准确度和稳定性十分关键^[28]。采用上述最佳预处理方法处理光谱，对不同光谱区段的建模效果进行考察。不断进行微调，使校正模型尽量达到最好的精密度和准确度。不同光谱区段对模型的影响见表 5。由于不同成分的化学结构不同，其所对应的特征波段也不同。

表 4 不同预处理方法对模型的影响

Table 4 Effects of different spectra pretreatments on models

预处理方法	绿原酸			阿魏酸			异绿原酸 A			藁本内酯			丁烯基苯肽			洋川芎内酯 I			欧当归内酯 A		
	<i>r</i>	RMSEP	RMSECV	<i>r</i>	RMSEP	RMSECV	<i>r</i>	RMSEP	RMSECV	<i>r</i>	RMSEP	RMSECV	<i>r</i>	RMSEP	RMSECV	<i>r</i>	RMSEP	RMSECV	<i>r</i>	RMSEP	RMSECV
未处理	0.749 2	0.108 0	0.188	0.847 5	0.090 0	0.167	0.962 3	0.011 6	0.041 1	0.884 2	1.340 0	1.240	0.906 1	0.066 9	0.114 0	0.908 2	0.392 0	0.650	0.860 2	0.136 0	0.246
SNV	0.839 1	0.091 2	0.201	0.861 9	0.078 8	0.192	0.959 9	0.011 1	0.042 8	0.887 9	1.260 0	1.170	0.910 2	0.053 6	0.105 0	0.917 9	0.332 0	0.671	0.852 9	0.086 8	0.279
MSC	0.824 3	0.094 5	0.190	0.860 4	0.078 7	0.247	0.960 3	0.012 9	0.042 0	0.897 8	1.240 0	1.180	0.916 1	0.054 8	0.101 0	0.920 6	0.330 0	0.631	0.860 1	0.079 1	0.280
1st der	0.922 2	0.079 9	0.152	0.973 0	0.033 5	0.157	0.960 0	0.012 1	0.042 5	0.889 9	1.280 0	1.170	0.975 5	0.039 9	0.096 4	0.990 2	0.380 0	0.622	0.980 9	0.097 2	0.206
1st der+Norris	0.892 3	0.070 6	0.142	0.911 7	0.065 8	0.163	0.961 6	0.011 6	0.040 5	0.982 0	0.625 0	1.020	0.952 8	0.034 3	0.090 8	0.966 9	0.107 0	0.600	0.922 1	0.028 1	0.242
2nd der+S-G	0.953 3	0.109 0	0.160	0.994 9	0.084 5	0.181	0.915 4	0.023 2	0.046 9	0.987 0	0.246 0	1.100	0.990 2	0.056 6	0.106 0	0.995 9	0.447 0	0.769	0.996 2	0.112 0	0.193
2nd der+Norris	0.881 8	0.108 0	0.150	0.960 3	0.106 0	0.190	0.969 7	0.012 7	0.040 0	0.973 4	0.838 0	0.846	0.962 4	0.017 5	0.086 1	0.976 8	0.286 0	0.604	0.947 6	0.097 0	0.202

表 5 不同光谱区段对模型的影响

Table 5 Effects of different spectral section on models

成分	ν/cm^{-1}	<i>r</i>	RMSEP	RMSECV
绿原酸	8 223.30~3 907.07	0.892 2	0.079 9	0.152 0
	10 999.97~5 062.80	0.950 7	0.085 4	0.182 0
	10 999.97~10 030.47, 7 905.45~4 289.17	0.937 6	0.072 1	0.148 0
阿魏酸	7 905.45~3 907.07	0.941 1	0.064 6	0.153 0
	10 999.97~7 893.46	0.989 0	0.087 2	0.188 0
	10 999.97~8 828.46, 7 539.62~3 903.22	0.970 2	0.038 9	0.152 0
异绿原酸 A	7 263.76~4 894.88	0.966 1	0.018 5	0.038 5
	10 999.97~8 339.53	0.952 7	0.012 9	0.045 3
	10 999.97~9 978.25, 5 462.64~4 057.15	0.973 2	0.018 1	0.039 8
藁本内酯	6 146.98~3 903.81	0.991 1	0.483 0	0.653 0
	7 459.23~5 112.84	0.992 6	0.745 0	1.310 0
	10 999.97~10 221.92, 7 008.68~6 946.83, 6 142.19~3 907.07	0.990 7	0.427 0	1.060 0
丁烯基苯肽	7 593.60~3 903.01	0.950 7	0.028 4	0.087 3
	6 010.35~4 127.25	0.951 7	0.034 9	0.085 1
	10 999.97~8 049.73, 7 364.06~6 792.90, 6 235.20~3 903.22	0.962 4	0.017 5	0.086 1
洋川芎内酯 I	8 906.97~3 941.34	0.963 8	0.292 0	0.654 0
	10 999.97~5 428.63	0.973 1	0.197 0	0.571 0
	10 999.97~10 052.43, 7 635.58~5 122.01	0.966 6	0.178 0	0.541 0
欧当归内酯 A	7 533.63~3 953.33	0.943 8	0.118 0	0.407 0
	10 999.97~4 876.89	0.988 9	0.129 0	0.253 0
	10 999.97~10 136.94, 7 453.02~6 225.69, 5 993.67~3 903.22	0.947 6	0.097 0	0.202 0

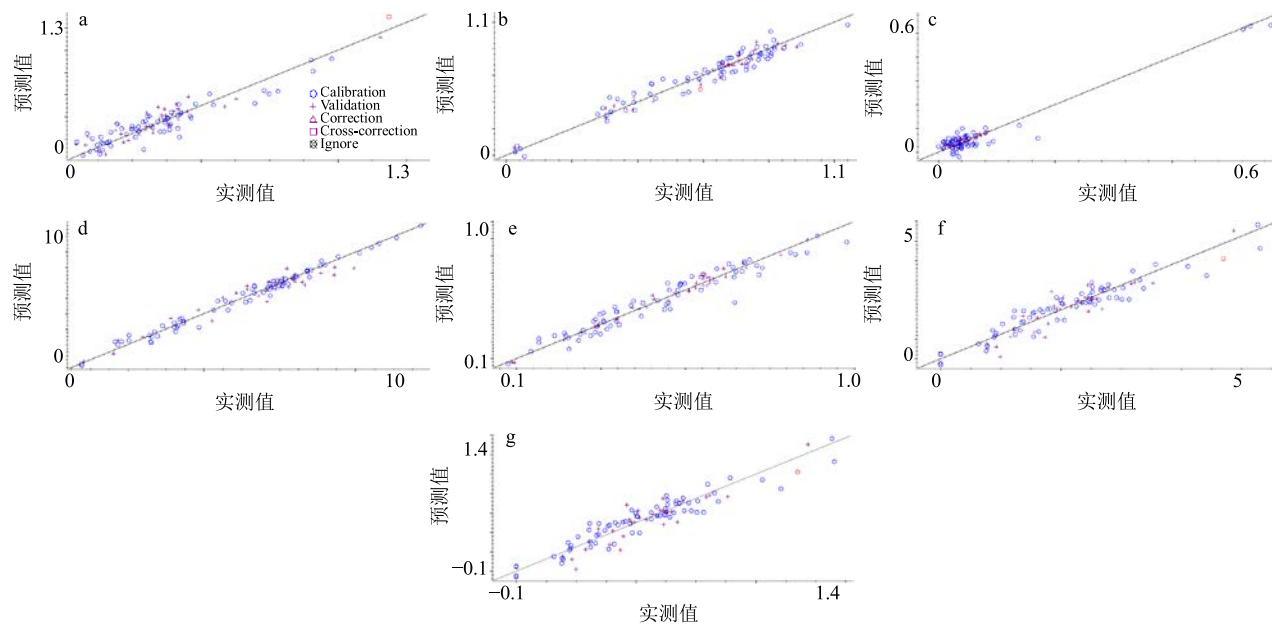
2.4 当归中 7 种成分的定量校正模型及其验证

通过上述优化过程,本研究建立了当归中 7 种成分的定量校正模型。结果如图 3 所示,7 种成分的相关系数均在 0.9 以上;大部分成分的校正均方差(RMSEC)和预测均方差(RMSEP)均在 0.1 以下。NIRS 模型预测值与 UPLC 测定值表现出良好的线性关系,模型拟合能力良好,可以通过近红外光谱对当归中的 7 种成分进行快速定量。

采用所建模型对验证集中约 34 个样品中 7 种成分含量的预测效果进行外部验证,结果如图 4 所示。可见大部分样品中 7 种成分的 NIRS 预测值与实测值十分接近,变化趋势基本一致。表明采用 NIRS 建模对当归中多种成分的含量进行预测结果可靠,可以满足快速检测的需要。

3 讨论

本研究应用 NIRS 技术结合 PLS 建立定量校正模型,实现了当归中绿原酸、阿魏酸、异绿原酸 A、藁本内酯、丁烯基苯肽、洋川芎内酯 I 和欧当归内酯 A 共 7 种成分的快速检测,方法操作简便、无需样品预处理过程,模型建立后一次测定仅需几分钟即可完成,且成本较低,不涉及有机试剂,绿色无污染,为更好控制当归药材的质量奠定基础。中药质量问题一直是限制中药现代化发展的关键^[29-30]。古人控制中药质量以性状为主,辨状论质,建立了中药品质和外观之间的关联性,就是追求在第一现场可以就对中药饮片进行分级和质量评价。当今时代,传统“辨状论质”主观性强而难以传承,日益难以为继,使得缺少适用于第一现场的快速检测技



a-绿原酸 b-阿魏酸 c-异绿原酸 A d-藁本内酯 e-丁烯基苯肽 f-洋川芎内酯 I g-欧当归内酯 A
a-chlorogenic acid b-ferulic acid c-isochlorogenic acid A d-ligustilide e-butylenephthalide f-senkyunolide I g-levistilide A

图 3 当归中 7 种成分的定量校正模型

Fig. 3 Quantitative calibration model of seven components in *A. sinensis*

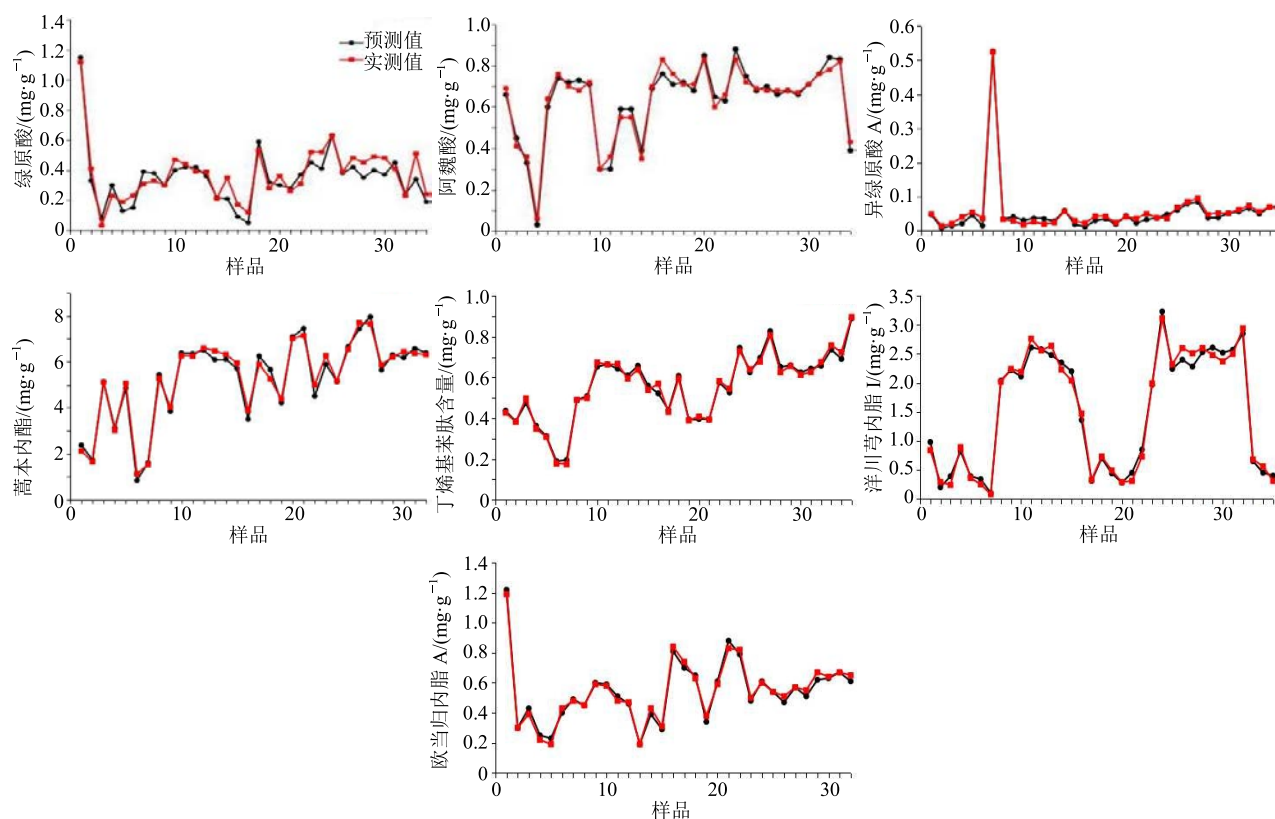


图 4 7 种成分的验证集中预测值与实测值的比较

Fig. 4 Comparison of predicted value and measured value of seven components in validation set

术,从而难以从各个环节直接评价中药的品质。缺少快速检测技术已经成为当前制约中药质量体系的关键性制约因素。随着相关方法和技术的发展成熟,近红外光谱技术或将为实现中药的现场检测提供可能。这种快速的现场检测方法,可用于从产地采集、加工炮制、运输、储存、流通各个环节,对于实现药材全程可追溯^[31],更好地保证中药质量的稳定可控具有十分重要的意义。

参考文献

- [1] 秦书芝,袁如文,张 瑶,等. 当归不同部位中阿魏酸含量的测定 [J]. 中医药导报, 2014, 20(3): 74-75.
- [2] 李 曦,张丽宏,王晓晓,等. 当归化学成分及药理作用研究进展 [J]. 中药材, 2013, 36(6): 1023-1028.
- [3] Wei W L, Zeng R, Gu C M, et al. *Angelica sinensis* in China-A review of botanical profile, ethnopharmacology, phytochemistry and chemical analysis [J]. *J Ethnopharm*, 2016, 190(2016): 116-141.
- [4] 王 婕. 当归药材的质量标准与道地性研究 [D]. 兰州: 兰州大学, 2012.
- [5] 顾志荣,王亚丽,孙宇靖,等. 当归中 5 种成分同时测定与产地质量评价 [J]. 中成药, 2014, 36(10): 2135-2140.
- [6] 雷晓晴,李 耿,王秀丽,等. 基于近红外光谱法快速测定丹参中 5 种成分模型的建立 [J]. 中草药, 2018, 49(11): 2653-2661.
- [7] 陈佳乐,金 叶,陈红英,等. 川芎药材的近红外多指标快速质量评价 [J]. 中草药, 2016, 47(6): 1004-1009.
- [8] 马 越,刘永强,门宇凤,等. 近红外光谱法快速测定芍药根中芍药苷和芍药内酯苷 [J]. 中草药, 2018, 49(3): 700-707.
- [9] 战 皓,吴宏伟,张 东,等. 近红外光谱法测定不同产地黄芪中毛蕊异黄酮葡萄糖苷和黄芪甲苷含量 [J]. 光谱学与光谱分析, 2017, 37(5): 1391-1396.
- [10] 闫珂巍,王 福,梅国荣,等. 基于近红外光谱技术快速定性鉴别广陈皮模型的建立 [J]. 中草药, 2015, 46(20): 3096-3099.
- [11] 徐 亚,李 慧,冯学峰,等. 基于显微和近红外方法定性鉴别中药材威灵仙不同基原品种的比较研究 [J]. 中国中药杂志, 2015, 40(7): 1278-1282.
- [12] 张 敏,韩正洲,严 萍,等. 基于近红外漫反射光谱的鸡血藤药材定性分析 [J]. 世界科学技术—中医药现代化, 2014, 16(7): 1491-1496.
- [13] 余 驰,姜 红,刘爱萍. 近红外漫反射光谱法建立厚朴药材的定性模型 [J]. 药物分析杂志, 2009, 29(4): 656-658.
- [14] 唐 艳,王维皓,刘江弟. 基于近红外技术的西洋参质量评价及产地鉴别 [J]. 中药材, 2018, (3): 548-553.
- [15] 赵艳丽,张 霁,袁天军,等. 近红外光谱快速鉴别不同产地药用植物重楼的方法研究 [J]. 光谱学与光谱分析, 2014, 34(7): 1831-1835.
- [16] 杨天鸣,张 璐,付海燕,等. 不同产地甘草的近红外指纹图谱模式识别鉴别方法 [J]. 亚太传统医药, 2015, 11(14): 11-14.
- [17] 涂瑶生,全智慧,孙冬梅,等. 近红外光谱法快速测定制川乌提取浓缩过程中单酯型生物碱 [J]. 中草药, 2013, 44(7): 839-844.
- [18] 杜晨朝,赵安邦,吴志生,等. 近红外光谱结合不同变量筛选方法用于金银花提取过程中绿原酸量的在线监测 [J]. 中草药, 2017, 48(16): 3317-3321.
- [19] 杜文俊,刘雪松,陶玲艳,等. 热毒宁注射液金银花和青蒿(金青)醇沉过程中多指标的近红外快速检测 [J]. 中草药, 2015, 46(1): 61-66.
- [20] 李文龙,瞿海斌. 基于近红外光谱技术的“过程轨迹”用于中药制药过程监控的研究进展 [J]. 中国中药杂志, 2016, 41(19): 3506-3510.
- [21] 徐芳芳,冯双双,李雪珂,等. 青蒿浓缩过程在线近红外快速检测模型的建立 [J]. 中草药, 2016, 47(10): 1690-1695.
- [22] 白新涛,霍宝军,张 博,等. 近红外光谱法快速检测黄芪注射液中黄芪甲苷和总固体量 [J]. 中草药, 2012, 43(11): 2189-2193.
- [23] 陈 乐,张华峰,郝 淼,等. 淫羊藿水分和灰分的近红外快速检测 [J]. 中草药, 2015, 46(9): 1368-1373.
- [24] 杜文俊,刘雪松,陶玲艳,等. 热毒宁注射液金银花和青蒿(金青)醇沉过程中多指标的近红外快速检测 [J]. 中草药, 2015, 46(1): 61-66.
- [25] 郝 敏,白 雁,谢彩侠,等. 近红外光谱法快速测定不同连翘饮片中连翘酯苷 A 的含量 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2016, 22(8): 78-82.
- [26] 李方飞,彭应枝,许雄博,等. 近红外光谱技术结合化学计量学快速测定杜仲中松脂素二葡萄糖苷和京尼平苷酸的含量 [J]. 光谱学与光谱分析, 2016, 36(12): 3945-3950.
- [27] 杜 敏. 中药近红外光谱检测影响因素的研究 [D]. 北京: 北京中医药大学, 2013.
- [28] 魏惠珍,张五萍,毛红梅,等. 近红外光谱法在白芍提取物纯化过程中快速质量控制研究 [J]. 中草药, 2013, 44(9): 1128-1133.
- [29] 安 健,安保玲. 中药现代化的几个关键问题及其对策 [J]. 临床医药文献杂志, 2017, 33(4): 6345-6347.
- [30] 赵永良,王 超,韩亚朋,等. 中药现代化研究关键问题与前景 [J]. 中国医药指南, 2011, 9(4): 123-126.
- [31] 施明毅,温川飙,王显倩,等. 中药质量追溯体系研究现状 [J]. 成都中医药大学学报, 2016, 39(3): 109-113.