

文章编号: 1000-5692(2007)05-0544-06

近红外反射光谱法测定厚朴酚类物质

郁重彦, 童再康, 黄华宏, 朱玉球

(浙江林学院 林业与生物技术学院, 浙江 临安 311300)

摘要: 为了建立厚朴 *Magnolia officinalis* 药材品质快速有效的评价方法, 采用近红外反射光谱技术测定厚朴酚及和厚朴酚的质量分数。通过在全波长条件下, 运用不同数学预处理、光谱散射校正和统计方法对来发展定标回归方程, 其中统计方法包括偏最小二乘法(PLS)、修正的偏最小二乘法回归分析法(MPLS)和主成分回归法(PCR)。在对比分析的基础上, 得到最佳的数学方法为“3, 6, 6, 1”组合, 光谱散射校正方法为 SNV+D 或 SNV, 统计方法为 MPLS, 厚朴酚类物质的定标决定系数 RSQ 均达到了 0.97 以上。该定标模型的外部独立检验相关系数也均达 0.95 以上。用近红外反射光谱技术测定厚朴药材酚类物质质量分数具有与化学法相近的准确性, 可在实践中应用。图 2 表 5 参 11

关键词: 植物学; 近红外反射光谱; 厚朴; 偏最小二乘法; 酚类物质; 中药材分析

中图分类号: S718. 43; Q946. 8 **文献标志码:** A

中药材中的活性成分是其药效的物质基础, 常作为原药材质量控制和品质评价的重要指标。对中药材活性成分的测定, 通常采用气液色谱(GC)、高效液相色谱(HPLC)、薄层层析(TLC)等方法。一般需对样品进行复杂的前处理, 分析速度慢, 成本较高, 并且会用到大量有毒试剂, 对分析者和环境带来极大的危害。近红外光谱(NIR)是一种新的无损检测技术, 具有测定速度快, 可同时分析多项指标, 成本较低等特点, 已在水稻 *Oryza sativa*^[1—3], 小麦 *Triticum aestivum*^[4], 油菜 *Brassica campestris*^[5], 烟草 *Nicotiana tabacum*^[6] 等作物的品质分析方面得到广泛应用。近年来, 该技术逐渐被引入到中药领域, 在中药材真伪鉴别、产地分析和成分定量等方面取得了一些进展。高越等^[7]应用近红外漫反射光谱法建立了贝母 *Fritillari* sp. 药材鉴别的一种新方法。王平等^[8]以人参 *Alcoholicae ginseng* 和黄芪 *Astragalus membranaceus* 为材料, 研究了不同产地药材的近红外光谱特征。杨南林等^[9]采用偏最小二乘法(PLS)建立了 5 个组分的近红外光谱定标模型, 并以此快速无损测定了三七 *Panax notoginseng* 中皂苷类成分。厚朴 *Magnolia officinalis* 是木兰科 Magnoliaceae 植物, 为我国特有的药材, 其品质的优劣主要取决于酚类物质含量。迄今为止, 未见有将近红外光谱技术用于厚朴药材酚类物质测定的报道。本文以不同产地的厚朴药材样品为材料, 探讨了不同的数学处理和光谱散射校正方法对近红外光谱法分析厚朴酚、和厚朴酚的影响, 并建立相应的回归方程, 为开展厚朴药材品质的快速评价及相关产品的质量控制提供技术依据。

收稿日期: 2007-03-28; 修回日期: 2007-06-29

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(30371743)

作者简介: 郁重彦, 硕士研究生, 从事药用植物遗传改良研究。E-mail: nbycy1980@163.com。通信作者: 童再康,

教授, 博士, 从事林木遗传育种研究。E-mail: zktong@zjfc.edu.cn
©1994-2015 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. <http://www.cnki.net>

1 材料与方法

1.1 试验材料

厚朴药材样品采自浙江、湖北、四川、广西、湖南等省的8个产地, 共229份。样品自然晾干后, 剪碎碾磨, 并过40目筛, 分别装入聚乙烯塑料袋, 常温储存备用。

1.2 NIRS 扫描与光谱分析

采用美国生产的NIR Systems 5000型近红外分析仪。厚朴皮粉样(约2.5 g)直接盛于直径为35 mm石英窗的圆形小盒内, 在波长为1100~2498 nm的范围内, 每隔2 nm采集反射强度(R)。每份样品重复扫描32次, 储存于计算机中, 取平均值, 并转化为 $\lg(1/R)$ 。

在收集样品近红外光谱时, 会有许多主要来自高频随机噪音、基线漂移、信号本底、样品颗粒大小和光散射等的噪音信息。这将严重干扰近红外反射强度 R 与样品中各项指标的关系, 并直接影响到近红外回归分析方程的可靠性和准确性。因此, 在光谱分析时, 先采用数学处理和光谱散射处理2类方法来滤除噪音。前者主要有导数和平滑处理2种方法, 其中导数处理可提高光谱的分辨率及减小基线漂移, 而平滑处理则可以去掉高频噪音对光谱信号的干扰。后者包括趋势变换法(detrending, D), 标准正态变量转换(transformation of standard normal variate, SNV), 乘性散射校正(multiplicative scatter correction, MSC)等3种方法。

采用近红外分析软件Wini II V1.02, 将上述的各种数学处理和光谱预处理方法进行组合分析, 从而优化各项指标的回归分析方程。

1.3 HPLC 分析方法

采用《中华人民共和国药典》中高效液相色谱分析法(HPLC)测定厚朴酚与和厚朴酚的质量分数^[10]。所用仪器为Waters 1525 μ型高效液相色谱仪, Waters 2487紫外检测器, 检测波长294 nm, Symmetry C-18柱(4.6 mm×150.0 mm, 5 μm), 柱温为30 °C。保留时间定性, 外标法定量。所用甲醇为HPLC级, 厚朴酚、和厚朴酚标样购自中国生物制品检定所。所测得的厚朴酚、和厚朴酚质量分数为样品干质量的质量分数。结果见表1。

表1 厚朴药材样品2种酚类物质实测值统计

Table 1 Laboratory reference value statistics of two phenolic matters for *Magnolia officinalis* samples

厚朴酚				定标集				检验集			
类物质	样品数	平均值/(mg·g ⁻¹)	变幅/(mg·g ⁻¹)	标准差	样品数	平均值/(mg·g ⁻¹)	变幅/(mg·g ⁻¹)	标准差	样品数	平均值/(mg·g ⁻¹)	变幅/(mg·g ⁻¹)
厚朴酚	199	24.40	2190~87.900	15.40	30	26.60	1.760~56.510	15.60	30	26.60	1.760~56.510
和厚朴酚	199	6.90	0.030~45.610	9.60	30	8.30	0.690~43.490	11.00	30	8.30	0.690~43.490

1.4 预测方程的建立与检验

根据定标需要, 从229份个样品中随机抽出30份作为检验集, 其余样品作为定标集用于构建回归方程。本研究采用全波段进行回归分析构建回归方程。通过各种处理, 利用定标集样品建立一系列的定标方程, 然后用这一定标方程对检验集的样品进行测定, 将该值与检验集样品的化学测定值进行统计比较, 通过回归方程相关重要参数来评价预测效果的好坏, 以此来筛选最佳组合的定标方程。

回归方法主要采用主成分回归(principal component regression, PCR), 偏最小二乘法(partial least squares, PLS)和修正的偏最小二乘法(modified PLS, MPLS)回归分析等来建立。衡量回归方程优劣的参数主要包括定标标准差(SEC), 定标决定系数(RSQ1), 经校正的工作标准差[SEP(C)]和检验决定系数(RSQ2)。构建回归方程时, 相应的各类标准差越小越好, 而决定系数越大越好。

2 结果与分析

2.1 厚朴药材的近红外光谱图

用近红外光谱分析仪扫描出的厚朴皮粉样的近红外光谱图如图1所示。从图1可知厚朴皮粉样的

近红外光谱图有多处吸收峰，不同厚朴皮粉样的吸收峰大小不同，所以厚朴皮粉样的近红外光谱可作为定量分析依据。

2.2 数学处理

在近红外分析软件中，通过对“导数阶数、导数处理的波长点、平滑处理的波长点和二次平滑（一般不用，并设置为1）”不同组合处理样品光谱，可使厚朴酚与和厚朴酚的近红外分析均产生不同效果。表2所示为不同的数学处理方法对厚朴酚与和厚朴酚质量分数定标结果的影响。从表2中数据可知，2阶导数处理对厚朴酚与和厚朴酚定标和外部检验的改善效果总体较1阶和3阶导数好。不同数学组合对定标和外部检验效果的影响不一致。对于和厚朴酚，“3, 6, 6, 1”（3阶导数、导数处理的波长点为6、平滑波长点为6和无二次平滑）组合和“2, 4, 4, 1”组合，可使定标RSQ1分别为0.974, 0.968, SEC分别为0.120, 0.149；同时其检验决定系数RSQ2也较高，均为0.966，误差SEP(C)分别为0.211和0.205。从方程衡量参数的数值看，不同数学组合下厚朴酚的定标、外部检验效果比和厚朴酚差，其中“3, 6, 6, 1”组合可取得相对较好的改善效果，定标RSQ1为0.977，SEC为0.205，检验RSQ2和SEP(C)分别为0.954和0.337。

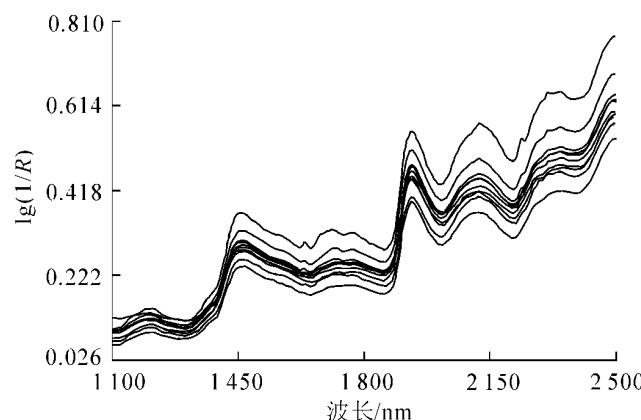


图1 10个随机厚朴品的近红外光谱图

Figure 1 The ten random spectrums of *Magnolia officinalis* samples
Figure 1 The ten random spectrums of *Magnolia officinalis* samples
Figure 1 The ten random spectrums of *Magnolia officinalis* samples
Figure 1 The ten random spectrums of *Magnolia officinalis* samples
Figure 1 The ten random spectrums of *Magnolia officinalis* samples
Figure 1 The ten random spectrums of *Magnolia officinalis* samples
Figure 1 The ten random spectrums of *Magnolia officinalis* samples
Figure 1 The ten random spectrums of *Magnolia officinalis* samples
Figure 1 The ten random spectrums of *Magnolia officinalis* samples
Figure 1 The ten random spectrums of *Magnolia officinalis* samples

表2 近红外反射光谱分析中不同数学处理方法对厚朴中2种酚类物质定标结果的影响

Table 2 The effects of mathematic methods of NIRS calibration on the two phenolic matters in *Magnolia officinalis*

数学处理方法	厚朴酚				和厚朴酚			
	校正		检验		校正		检验	
	SEC	RSQ1	SEP(C)	RSQ2	SEC	RSQ1	SEP(C)	RSQ2
1, 2, 2, 1	0.258	0.966	0.393	0.947	0.203	0.954	0.385	0.879
1, 4, 4, 1	0.239	0.971	0.339	0.961	0.207	0.947	0.320	0.917
1, 6, 6, 1	0.252	0.967	0.349	0.959	0.207	0.943	0.318	0.917
1, 8, 8, 1	0.275	0.963	0.409	0.942	0.207	0.945	0.278	0.937
1, 10, 10, 1	0.248	0.970	0.338	0.959	0.268	0.923	0.329	0.920
平均	0.254	0.967	0.366	0.954	0.219	0.942	0.326	0.914
2, 2, 2, 1	0.257	0.961	0.409	0.932	0.204	0.934	0.267	0.942
2, 4, 4, 1	0.234	0.971	0.439	0.921	0.149	0.968	0.205	0.966
2, 6, 6, 1	0.224	0.973	0.343	0.953	0.133	0.970	0.229	0.958
2, 8, 8, 1	0.229	0.972	0.341	0.954	0.162	0.962	0.269	0.943
2, 10, 10, 1	0.233	0.971	0.353	0.951	0.178	0.954	0.264	0.946
平均	0.235	0.970	0.377	0.942	0.165	0.958	0.247	0.951
3, 2, 2, 1	0.252	0.963	0.422	0.928	0.209	0.921	0.333	0.910
3, 4, 4, 1	0.214	0.976	0.372	0.944	0.151	0.967	0.271	0.940
3, 6, 6, 1	0.205	0.977	0.337	0.954	0.120	0.974	0.211	0.966
3, 8, 8, 1	0.237	0.971	0.337	0.955	0.181	0.953	0.258	0.945
3, 10, 10, 1	0.261	0.964	0.438	0.921	0.165	0.959	0.296	0.928
平均	0.242	0.969	0.374	0.946	0.184	0.951	0.283	0.934

2.3 光谱的散射校正

经不同的光谱散射校正方法后，对厚朴药材中酚类物质的定标和外部检验会有一定的影响。由表3数据可知，在数学处理为“3, 6, 6, 1”的条件下，Detrend处理和对照一样，即未对定标和外部检验起到改善作用；而另外3种光谱散射校正方法的效果基本相似，衡量回归方程优劣的判定系数、标

准差均得到一定的改善, 即 RSQ1 和 RSQ2 增大, SEC 和 SEP (C) 则减小。因此, 在实际应用中可考虑采用 SNV+D, SNV 和 MSC 中任何一种方法。

表 3 近红外反射光谱分析中不同光谱散射校正方法对厚朴酚类物质定标效果的影响

Table 3 The effects of spectra scatter correction on NIRS calibrations for phenolic matters of *Magnolia officinalis*

光谱散射 处理方法	厚朴酚				和厚朴酚			
	校正		检验		校正		检验	
	SEC	RSQ1	SEC (C)	RSQ2	SEC	RSQ1	SEC (C)	RSQ2
dk	0.239	0.967	0.408	0.932	0.132	0.967	0.238	0.954
SNV+D	0.205	0.977	0.337	0.954	0.120	0.974	0.211	0.966
SNV	0.205	0.977	0.337	0.954	0.120	0.974	0.211	0.966
D	0.239	0.967	0.408	0.932	0.132	0.967	0.238	0.954
MSC	0.203	0.977	0.339	0.953	0.120	0.974	0.210	0.966

2.4 统计方法

由于近红外光谱包含了大量的相互关联的信息数据, 因此, 用最小平方回归法以无法满足对 NIRS 的校正。主成分分析可以将光谱信息缩减为少量独立的因子, 而这些因子又可以进一步用于 PCR 用来校正。除 PCR 外, 还有 PLS, MPLS 等方法^[11] 也可用于 NIRS 的校正分析。

由表 4 可知, 不同回归分析方法对厚朴药材 2 种酚类物质的定标和外部检验效果有很大的影响。从 2 种数学处理方法组合的平均效应来看, MPLS 和 PLS 的定标和外部检验效果要明显好于 PCR 统计方法, 而且前两者的效果非常接近, 所建立的回归方程的各项决定系数较高, 误差项较低。这与吴建国等^[2]的研究报道一致。从各处理组合的衡量参数的具体数值看, 无论厚朴酚还是和厚朴酚, MPLS 统计方法的效果相对好于 PLS。

表 4 近红外反射光谱分析中不同回归方法对厚朴中 2 种酚类物质定标效果的影响

Table 4 The effects of regression methods of NIRS calibration on the two phenolic matters in *Magnolia officinalis*

统计方法	酚类物质	数学处理	校正		检验	
			SEC	RSQ1	SEP (C)	RSQ2
MPLS	厚朴酚	1, 4, 4 1	0.239	0.971	0.339	0.961
		2, 4, 4 1	0.234	0.971	0.439	0.921
	和厚朴酚	1, 4, 4 1	0.207	0.947	0.320	0.917
		2, 4, 4 1	0.149	0.968	0.205	0.966
PLS	平均		0.207	0.964	0.326	0.941
	厚朴酚	1, 4, 4 1	0.222	0.974	0.351	0.954
		2, 4, 4 1	0.250	0.967	0.411	0.931
	和厚朴酚	1, 4, 4 1	0.218	0.942	0.271	0.941
		2, 4, 4 1	0.184	0.952	0.272	0.943
	平均		0.218	0.959	0.326	0.942
PCR	厚朴酚	1, 4, 4 1	0.450	0.892	0.582	0.866
		2, 4, 4 1	0.362	0.931	0.580	0.864
	和厚朴酚	1, 4, 4 1	0.494	0.668	0.455	0.859
		2, 4, 4 1	0.394	0.784	0.453	0.832
平均			0.425	0.819	0.518	0.855

说明: ①散射校正: SNV+D; ②数学处理: 1, 4, 4 1: 分别为 1 阶导数, 导数处理的波长点为 4 平滑波长数为 4 无二次平滑, 其余类推。

2.5 建立模型及预测

综合上述结果, 本实验在采用 MPLS 法和“3, 6, 6, 1”的数学处理组合的基础上, 结合 SNV+

D光谱散射校正方法, 分别对厚朴酚与和厚朴酚建立定标模型。用30个随机抽取的样品组成的检验群体对定标模型进行独立检验, 以NIRS预测值为 y , 化学测定值为 x , 得到厚朴酚与和厚朴酚预测回归方程分别为 $y=0.8726x+0.2524$ 和 $y=0.9706x+0.0398$, 结果见表5和图2。用NIRS技术所建立的定量模型具有较好的预测效果, 厚朴酚与和厚朴酚的回归相关系数 r 分别达0.954与0.966, 检验时总体标准误差分别为0.337和0.211, 总体平均值之间相差很小。这说明所建立的定量预测模型可用于厚朴药材品质的快速评价。

表5 用近红外技术分析厚朴药材酚类物质的校正效果

Table 5 Calibration efficiency of the phenolic matters in *Magnolia officinalis* by NIRS analysis

厚朴药材酚类物质	校正				检验		
	SEC	RSQ1	SECV	I-VR	SEP (C)	RSQ2	偏差
厚朴酚	0.205	0.977	0.250	0.929	0.337	0.954	0.088
和厚朴酚	0.120	0.974	0.329	0.952	0.211	0.966	0.012

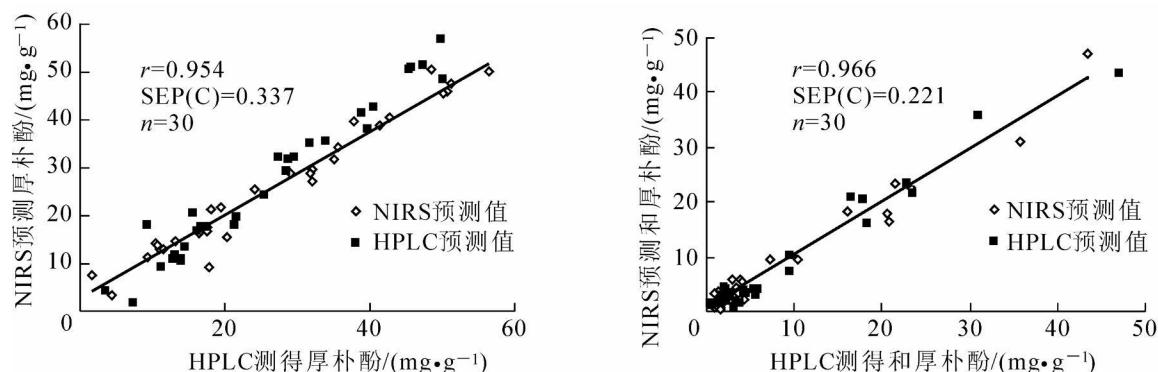


图2 近红外预测值与HPLC分析实测值相关图

Figure 2 The relevance about near infrared predict value and HPLC analyzing reality value

3 结论

近红外光谱法的原理是基于分子键对特定频率光的吸收而得到的有机键的种类和数量的信息。厚朴药材中的有效成分主要以酚类物质为主, 而构成酚类物质的分子键主要是碳氢键和氢氧键, 这些分子键的振动频率在近红外光谱区的光会产生特征的倍频与合频吸收。为了预测厚朴药材中的酚类物质的质量分数, 首先必须进行定标, 即建立NIRS光谱值与化学值之间的相关关系。本研究首次研究了利用近红外光谱法测定厚朴药材酚类物质, 分析了数学方法和光谱散射校正方法对定标效果的影响, 并得到了较好的回归预测方程。这可用于高酚类物质质量分数厚朴药材的筛选, 为相关药物生产的在线控制提供依据。当然, 相对于HPLC等分析方法, NIRS的精度偏低, 同时由于中药材的复杂性, 模型的适用性可能会有局限。但是, 通过收集不同栽培地、不同生长年限与不同采收时间的药材, 并选择具有充分代表性的样本, 优化建模方法, 将能建立起准确有效的校正模型, 最终应用于实际工业生产过程。

参考文献:

- [1] 肖昕, 陈奕, 罗文永, 等. 单粒活体稻谷种子直链淀粉含量的近红外透射光谱分析[J]. 中国水稻科学, 2003, 17(3): 287—290.
- [2] 吴建国, 石春海, 张小明, 等. 用近红外反射光谱法分析稻米3种必需氨基酸含量的研究[J]. 作物学报, 2003, 29(5): 688—692.
- [3] 刘建学, 吴守一, 方如明. 近红外光谱法快速检测大米蛋白质含量[J]. 农业机械学报, 2001, 32(3): 68—70.

- [4] 陈锋, 何中虎, 崔党群, 等. 利用近红外透射光谱技术测定小麦品质性状的研究[J]. 麦类作物学报, 2003, 23(3): 1—4.
- [5] 甘莉, 孙秀丽, 金良, 等. NIRS 定量分析油菜种子含油量、蛋白质含量数学模型的创建[J]. 中国农业科学, 2003, 36(12): 1 609—1 623.
- [6] 乐俊明, 陈鹰, 丁映. 近红外光谱分析法测定烟草化学成分[J]. 贵州农业科学, 2005, 33(3): 62—63.
- [7] 高越, 柴逸峰, 吴玉田. 近红外漫反射光谱法鉴别贝母药材的研究[J]. 中成药, 2005, 27(12): 1 440—1 443.
- [8] 王平, 陈泽琴, 谢洪平, 等. 不同产地中药材的近红外光谱初步研究[J]. 西华师范大学学报: 自然科学版, 2004, 25(1): 92—95.
- [9] 杨南林, 程翼宇, 吴永江. 中药材三七中皂苷类成分的近红外光谱快速无损分析新方法[J]. 化学学报, 2003, 61(3): 393—398.
- [10] 中华人民共和国药典会. 中华人民共和国药典[M]. 北京: 化学工业出版社, 2000.
- [11] SHENK J S, WESTERHAUS M O. Monograph: Analysis of Agriculture and Food Products by Near Infrared Reflectance Spectroscopy [M]. Port Matilda: Penn State University and Infra soft International, 1993; 26—51.

Quantification of phenolic compound in *Magnolia officinalis* herb by near infrared reflectance spectroscopy

YU Chong-yan, TONG Zai-kang, HUANG Hua-hong, ZHU Yu-qiu

(School of Forestry and Biotechnology, Zhejiang Forestry College, Lin'an 311300, Zhejiang, China)

Abstract: To establish evaluating the quality of *Magnolia officinalis* quickly and efficiently, this paper determined the quantification method of phenolic compound by using near infrared reflectance spectroscopy. Under the full wavelength, different mathematics and statistics were compared in the calibration. The statistics methods include partial least squares (PLS), modified PLS and principal component regression (PCR). The best mathematic method was “3, 6, 6, 1”, scatter correction method was transformation of standard normal variate (SNV) + detrending (D) or SNV and statistic method was modified PLS. The correlation coefficient of calibration was above 0.97. The correlation coefficient of exterior calibration was above 0.95. This indicates that near infrared reflectance spectorscopy (NIRS) is comparable to chemical methods in both accuracy and prediction and is reliable in practical application. [Ch, 2 fig, 5 tab, 11 ref.]

Key words: botany; near infrared reflectance spectroscopy; *Magnolia officinalis*; PLS algorithm; phenolic compounds; analysis of herb medicine