

近红外漫反射光谱法测定谷维素片的含量^Δ

黄丽丽*,朱健萍(广西壮族自治区食品药品检验所,南宁 530022)

中图分类号 R927 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2016)36-5132-03

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2016.36.29

摘要 目的:基于近红外光谱分析技术建立谷维素片的含量测定方法。方法:采集样品的近红外漫反射光谱,利用OPUS 6.5定量分析软件建立其光谱数据与含量的数学模型,并将通过该模型获得的预测值与紫外-可见分光光度法实际测定值进行比较,以验证该模型的可靠性。结果:根据46批校正集样品的相关数据经内部交叉验证建立的定量分析模型,交叉验证决定系数为92.78%,交叉验证均方根误差为0.364%。用19批验证集样品进行外部验证,预测均方根误差为0.295%,预测值与实际测定值的相关系数达0.948 1;预测值的平均回收率为99.81%。结论:建立的定量分析模型及方法用于谷维素片的含量测定简便、快捷,结果准确。

关键词 近红外漫反射光谱法;谷维素片;定量分析模型;含量

Content Determination of Oryzanol Tablet by Near Infrared Diffuse Reflectance Spectrophotometry

HUANG Lili, ZHU Jianping (Institute of Food and Drug Control, Guangxi Zhuang Autonomous Region, Nanning 530022, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To establish a method for the content determination of Oryzanol tablet based on near infrared (NIR) spectroscopy. METHODS: Collecting spectrums and content values of samples, mathematics model for spectrum and content was established by using OPUS 6.5, and the predicted values obtained by the model were compared with the measured values of the ultraviolet visible spectrophotometry to verify the reliability of the model. RESULTS: The coefficient of determination of established quantitative analysis model based on 46 batches of samples by cross-calibration was 92.78%, root mean square error of cross validation was 0.364%. Based on the validation of 19 batches of samples, the root mean square of prediction was 0.295%, the correlation coefficient of predicted values and measured values was 0.948 1. The mean recovery of predicted values was 99.81%. CONCLUSIONS: The established quantitative analysis model and method is simple, rapid and accurate in the content determination of Oryzanol tablet.

KEYWORDS Near infrared diffuse reflectance spectroscopy; Oryzanol tablet; Quantitative analysis model; Content

而这也作为变质药材品质评价的指标。综上所述,本试验所建立的HPLC指纹图谱专属性强、结果稳定,可作为红丝线药材质量评价的主要依据之一。

参考文献

- [1] 广州部队后勤卫生部.常用中草药手册[M].北京:人民卫生出版社,1969:852-853.
- [2] 谢宗万.全国中草药汇编[M].北京:人民卫生出版社,1996:266.
- [3] 姚小青,刘晓明,杨朝竣,等.山蓝中红丝线素的分离纯化研究与含量测定[J].中国药学杂志,2012,47(19):1 535.
- [4] 谢运昌.红丝线色素的提取和应用研究[J].广西轻工业,1993(3):29.
- [5] 刘同方,于华忠,刘建兰,等.红丝线化学成分及药理活性研究进展[J].广东农业科学,2013(19):116.
- [6] 暴惠宾.红丝线化学成分研究[D].南宁:广西大学,2009.
- [7] 陈伯财,钟锐,姬生国.十萼茄的生药学研究[J].广东药学院学报,2009,25(3):259.
- [8] 徐玉琳,张尚荣,张少欢,等.HPLC法测定红丝线草中红丝线素含量[J].中药材,2008,31(8):1 180.
- [9] 蒋红芝,陆春何.分光光度法测定红蓝草中总黄酮的含量[J].广西轻工业,2009(9):18.
- [10] 郭夫江,李援朝.麻栗坡红丝线中的酚类和酰胺类成分[J].中国中药杂志,2011,36(18):2 507.
- [11] 谢运昌,程菊英,蒋跃华,等.红丝线色素中的微量元素[J].广西轻工业,1994(3):24.
- [12] 徐玉琳,李英,林秋晓,等.红丝线草醇提取物的降压作用研究[J].今日药学,2011,21(2):77.
- [13] 秦树森,刘笑甫,张可锋.红丝线多糖对大鼠急性肝损伤的保护作用[J].华西药学杂志,2010,25(5):559.
- [14] 林志云,利红宇.红丝线的镇咳祛痰和免疫药效研究[J].广东药学,2004,14(1):37.
- [15] 杨朝竣,刘晓明,晋兴华,等.山蓝中的色素成分鉴定及体外抗氧化活性研究[J].食品工业科技,2012,33(18):156.

(收稿日期:2015-12-31 修回日期:2016-02-28)

(编辑:张 静)

^Δ基金项目:广西壮族自治区食品药品监督管理局食品药品安全科研项目(No.桂食药监科评[2016]8号)

*主管药师,硕士。研究方向:药物质量控制与评价。电话:0771-5828448。E-mail:huanglili9802@aliyun.com

谷维素片在临床上广泛用于调节植物神经功能,纠正内分泌平衡障碍,改善精神神经失调症状。其主要成分谷维素系阿魏酸与不同三萜烯酯的混合物,存在于米糠油中,难溶于水,能溶于乙醇、氯仿等有机溶剂中。该制剂的规格较小,为10 mg/片,容易造成装量差异检查项不合格。该制剂现行质量标准^[1]中的含量测定方法是以正庚烷为溶剂,在水浴中振摇溶解,用紫外-可见分光光度法(UV)测定。在实际工作中发现,该方法含量测定结果会受水浴温度、振摇方式及振摇时间的影响而出现不稳定的情况;同时,正庚烷膨胀系数较大,辅料在正庚烷中易形成胶状物^[2],从而影响主成分的溶出及测定。相关文献报道的谷维素片含量测定方法有高效液相色谱法^[3]以及改变溶剂的UV法^[4-5],而这些方法均需要对样品进行一定的预处理,过程烦琐,难以满足制药企业实施在线控制分析的要求。

近红外漫反射光谱(Near infrared diffuse reflectance spectroscopy, NIDRS)分析技术是一项应用十分广泛的绿色分析技术,该技术不需对样品进行预处理,操作简便、快速,在农作物^[6]、烟草、食品^[7]以及药物^[8-9]的定性定量分析方面已得到广泛应用。目前,应用NIDRS分析技术定量分析谷维素片中主成分含量尚未见文献报道。为此,本研究采用NIDRS法,通过构建定量分析模型,测定了谷维素片的含量。

1 材料

1.1 仪器

Matrix-F型傅里叶变换近红外光谱仪,配备半导体冷却的铟镓砷(InGaAs)检测器、1.5 m漫反射固体光纤探头、OPUS 6.5定量分析软件(德国Bruker公司);UV-2450型UV计(日本岛津公司);XS205DU型电子天平(瑞士Mettler-Toledo公司)。

1.2 药品与试剂

谷维素片样品[来自2014年全国评价性抽样检验,涉及3家企业共65批样品,其中山西云鹏制药有限公司32批,记为A1~A32;上海玉瑞生物科技(安阳)药业有限公司21批,记为B1~B21;天津力生制药股份有限公司12批,记为C1~C12,规格均为10 mg/片];正庚烷(分析纯,天津市光复精细化工研究所);水为纯化水。

2 方法

2.1 样品含量测定

取样品10片,精密称定,研细,精密称取适量(约相当于谷维素15 mg),置于50 ml量瓶中,加正庚烷适量,置于水浴中不断振摇使溶解,冷却至室温,再加正庚烷稀释至刻度,摇匀,滤过,弃去初滤液,精密量取续滤液2 ml,置于50 ml量瓶中,加正庚烷稀释至刻度,摇匀,照UV法在(315±2)nm波长处测定吸光度,按谷维素的吸收系数($E_{1\%}^{1\text{cm}}$)为350计算样品中谷维素的含量。

2.2 NIDRS采集

每批样品随机选取3片进行测定,设置扫描次数为32次,分辨率为8 cm⁻¹,采集光谱范围为12 000~4 000 cm⁻¹。每片样品重复采集3次,取平均光谱作为样品的最终光谱。

2.3 定量分析模型的建立

将65批样品按一定比例随机分为校正集和验证集,校正集样品用于定量分析模型的建立,验证集样品用于验证模型的预测能力。将测得的校正集样品的近红外光谱数据和UV

法含量数据导入OPUS 6.5定量分析软件,通过化学计量法建立二者之间的关系以建立模型。

根据OPUS 6.5软件自动优化的结果,以交叉验证均方根误差(RMSECV)、预测均方根误差(RMSEP)和决定系数(R^2)为模型质量评价指标,考察建模的光谱范围、光谱预处理方法、校正集与验证集的比例对模型的影响。RMSECV和RMSEP分别用来反映内部验证和外部验证对构建的模型质量的影响,通常情况下二者数值越小,说明模型的性能越好。 R^2 的含义为由解释变量引起的被解释变量的变化占被解释变量总变化的比重,用来判定实际测定值与模型预测值二者构建回归方程时拟合的优劣,该值越大说明拟合得越好,即 R^2 的大小决定了预测值与实际测定值相关的密切程度。当 R^2 值越接近1(100%)时,表示二者相关性越高,模型的预测越准确。

3 结果与分析

3.1 UV法测定结果

UV法测定结果显示,山西云鹏制药有限公司样品含量范围为95.15%~103.12%,上海玉瑞生物科技(安阳)药业有限公司样品含量为95.39%~101.34%,天津力生制药股份有限公司样品含量为99.41%~103.58%,总体样品的含量范围为95.15%~103.58%。

3.2 建模的光谱范围确定

通过比较OPUS 6.5软件光谱范围优化结果中的RMSECV值,考察了光谱范围对模型性能的影响,详见表1。由表1可知,光谱范围在7 501.8~6 097.9 cm⁻¹和5 453.8~4 597.5 cm⁻¹内时RMSECV值最小,所建模型性能最好。

表1 光谱范围对模型RMSECV值的影响

Tab 1 Effect of spectral coverage on RMSECV

序号	光谱范围,cm ⁻¹	RMSECV,%
1	7 501.8~6 097.9,5 453.8~4 597.5	0.364
2	7 501.8~5 449.9	0.369
3	7 501.8~6 799.9,5 453.8~5 025.7	0.377
4	7 501.8~4 597.5	0.389
5	6 101.8~4 597.5	0.395
6	11 995.2~7 498.0	0.407
7	11 995.2~7 498.0,6 101.8~4 246.5	0.406

3.3 光谱预处理方法确定

3家企业生产的样品的NIDRS相似性很高(详见图1),需要通过一定的预处理方法提取光谱图中的信息。OPUS 6.5软件中常用的光谱预处理方法有消除常数偏移法、多元散射校正法(Multiplicative scatter correction, MSC)、一阶导数法、二阶导数法、矢量归一化法等。本研究在选定的光谱范围,通过比较寻求最优的预处理方法。通过内部交叉验证及外部验证,结合RMSECV、RMSEP和 R^2 值3个参数来考察模型性能, RMSECV值和RMSEP值越小, R^2 值越大,模型性能越好。光谱预处理方法对模型参数的影响见表2。由表2可知,在选定的光谱范围内(7 501.8~6 097.9和5 453.8~4 597.5 cm⁻¹),兼顾RMSECV、RMSEP和 R^2 值,采用一阶导数法与MSC法相结合的光谱预处理方法时模型的预测效果最优。

3.4 校正集与验证集的比例确定

在选定的光谱范围内(7 501.8~6 097.9和5 453.8~4 597.5 cm⁻¹),通过采用一阶导数法与MSC法相结合的光谱

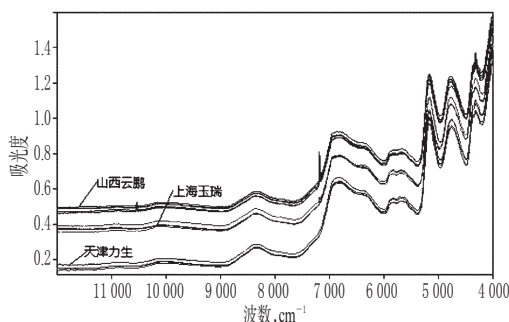


图1 3家企业样品的原始NIDRS图

Fig 1 Original NIDRS of samples from 3 companies

表2 光谱预处理方法对模型参数的影响

Tab 2 Effect of preprocessing methods on model parameters

序号	预处理方法	R^2 /RMSECV, %	R^2 /RMSEP, %
1	一阶导数法+MSC法	92.78/0.364	95.18/0.295
2	一阶导数法+矢量归一化法	92.21/0.378	94.19/0.324
3	一阶导数法+直线差减法	90.27/0.423	94.51/0.315
4	一阶导数法	90.27/0.423	93.93/0.331
5	MSC法	90.06/0.428	91.51/0.391
6	矢量归一化法	89.69/0.436	93.46/0.344
7	二阶导数法	89.16/0.447	95.44/0.287
8	最大-最小归一化法	89.09/0.448	94.18/0.324
9	直线差减法	88.93/0.451	93.42/0.345
10	消除常数偏移法	87.14/0.486	90.78/0.408

预处理方法,考察了校正集与验证集的样品比例对模型参数的影响,详见表3。由表3可知,65批样品中校正集与验证集的样品比例为7:3,即校正集样品为46批、验证集样品为19批时所建立的模型相关参数最理想。

表3 校正集与验证集的样品比例对模型参数的影响

Tab 3 Effect of the ratio of calibration to validation on model parameters

序号	校正集:验证集	R^2 /RMSECV, %	R^2 /RMSEP, %
1	8:2	94.03/0.341	92.70/0.358
2	7:3	95.18/0.295	92.78/0.364
3	6:4	94.41/0.325	88.99/0.441
4	5:5	95.28/0.302	86.13/0.482
5	4:6	93.93/0.329	78.20/0.646
6	3:7	91.51/0.396	75.51/0.666

3.5 验证集样品含量的预测结果

用建立的定量分析模型对验证集样品含量进行预测,结果见表4。由表4可知,所建立的模型对验证集样品含量的预测值与实际测定值之间的误差较小,回收率较高,预测结果准确。将预测值与实际测定值进行线性回归,得到回归方程的相关系数为0.948 1。

4 讨论

本研究通过采用NIDRS法构建了谷维素片的定量分析模型,并通过考察和比较最终确定了模型的最优光谱范围、光谱预处理方法和校正集与验证集的比例,并对模型性能和预测效果作出了评价。研究结果表明,所建立的定量分析模型及方法用于谷维素片的含量测定简便、快捷,结果准确。

基于近红外光谱技术建立的含量分析模型是一个数学拟合模型,参与建模的样本量越大,实际测定值与模型预测值愈

表4 验证集样品含量的预测结果

Tab 4 Prediction results of samples' contents in validation

编号	实际测定值, %	预测值, %	偏差, %	相对偏差, %	回收率, %
A 5	11.496 2	11.50	-0.003 8	0.016 5	100.03
A 13	14.386 2	14.44	-0.053 8	0.186 6	100.37
A 18	11.820 4	11.69	0.130 4	0.554 6	98.90
A 20	11.328 7	12.03	-0.701 3	3.002 3	106.19
A 25	15.219 9	14.65	0.569 9	1.907 9	96.26
A 26	12.696 8	12.54	0.156 8	0.621 3	98.77
A 28	14.095 2	14.46	-0.364 8	1.277 5	102.59
A 30	14.655 8	14.87	-0.214 2	0.725 5	101.46
A 32	15.031 1	14.69	0.341 1	1.147 7	97.73
B1	11.636 8	11.87	-0.233 2	0.992 1	102.00
B5	14.833 2	14.79	0.043 2	0.145 8	99.71
B8	12.390 5	12.46	-0.069 5	0.279 7	100.56
B15	14.550 0	14.31	0.240 0	0.831 6	98.35
B19	12.208 8	11.96	0.248 8	1.029 4	97.96
B20	12.486 6	12.44	0.046 6	0.186 9	99.63
B21	12.115 5	11.98	0.135 5	0.562 3	98.88
C3	12.288 1	11.81	0.478 1	1.984 0	96.11
C8	11.726 3	11.95	-0.223 7	0.944 8	101.91
C10	11.979 7	11.85	0.129 7	0.544 3	98.92
平均					99.81

接近。由于本研究涉及的样品量有限,样品含量范围不宽(95.15%~103.58%),期望在今后的工作中增大参与建模的样本量,扩大含量范围,在大数据的基础上优化建模参数,不断完善模型。

参考文献

- [1] 卫生部 卫生部药品标准:化学药品及制剂:第1册[S].1989:56.
- [2] 梁锦晖.谷维素片含量测定方法的改进[J].广东药学,1999,9(2):16.
- [3] 张连成,贾首时,王超众. HPLC法测定谷维素片含量[J].中国药品标准,2008,9(3):237.
- [4] 朱碧君,田慧.改良紫外分光光度法测定谷维素片的含量及含量均匀度[J].药物分析杂志,1993,14(2):43.
- [5] 南亚莉,潘希霞.谷维素片含量测定中溶解方法的改进[J].药物分析杂志,2001,21(5):370.
- [6] Foca G, Marina C, Vigni ML, *et al.* Different feature selection strategies in the wavelet domain applied to NIR-based quality classification models of bread wheat flours [J]. *Chemometr Intell Lab Syst*, 2009, 99(2): 91.
- [7] Bobelyn E, Serban AS, Nicu M, *et al.* Postharvest quality of apple predicted by NIR-spectroscopy: Study of the effect of biological variability on spectra and model performance [J]. *Postharvest Biol Technol*, 2010, 55(3): 133.
- [8] 张学博,杨眉,马金山,等.近红外光谱法对渗透泵型缓释制剂的测样标准化研究及建模技术的探讨[J].华西药理学杂志,2013,28(4):381.
- [9] 邢俊生,张学博.近红外漫反射光谱法快速测定氨苄西林胶囊的含量[J].药物分析杂志,2010,30(12):2408.

(收稿日期:2015-12-31 修回日期:2016-11-02)

(编辑:周 箐)