

# NIRS 结合 PLS 算法快速测定西洋参饮片中人参皂苷 Rg<sub>1</sub>、Re、Rb<sub>1</sub> 的总含量<sup>Δ</sup>

左春芳<sup>1\*</sup>, 梁雪琪<sup>2</sup>, 喻俊峰<sup>1#</sup>, 吕亚新<sup>1</sup>, 张贤良<sup>3</sup>(1.解放军第150中心医院药剂科, 河南 洛阳 471031; 2.洛阳理工学院附属中学, 河南 洛阳 471031; 3.解放军第72660部队, 河南 三门峡 472400)

中图分类号 R284 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2017)36-5140-04

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2017.36.26

**摘要** 目的:建立快速测定西洋参饮片中人参皂苷 Rg<sub>1</sub>、Re、Rb<sub>1</sub>总含量的方法。方法:采用高效液相色谱法测定饮片中人参皂苷 Rg<sub>1</sub>、Re、Rb<sub>1</sub>的总含量(作为参考值)。采用红外漫反射光谱技术(NIRS)结合偏最小二乘法(PLS)建立饮片中人参皂苷 Rg<sub>1</sub>、Re、Rb<sub>1</sub>总含量模型:根据参考值采集62份饮片样品,以标准归一化法联合一阶导数法预处理光谱,饮片样品中人参皂苷 Rg<sub>1</sub>、Re、Rb<sub>1</sub>总含量测定最佳波段为7 664.23~5 236.05 cm<sup>-1</sup>。结果:饮片样品中人参皂苷 Rg<sub>1</sub>、Re、Rb<sub>1</sub>总含量测定方法学验证符合要求。人参皂苷 Rg<sub>1</sub>、Re、Rb<sub>1</sub>总含量模型的校正集相关系数为0.991 03,校正均方差为0.010 26。结论:该方法快速准确、简便无污染,可用于西洋参饮片中人参皂苷 Rg<sub>1</sub>、Re、Rb<sub>1</sub>总含量的快速测定。

**关键词** 西洋参;人参皂苷;近红外漫反射光谱技术;偏最小二乘法

## Rapid Determination of Ginsenoside Rg<sub>1</sub>, Re, Rb<sub>1</sub> in *Panax quinquefolius* Pieces by NIRS Combined with PLS Algorithm

ZUO Chunfang<sup>1</sup>, LIANG Xueqi<sup>2</sup>, YU Junfeng<sup>1</sup>, LYU Yaxin<sup>1</sup>, ZHANG Xianliang<sup>3</sup>(1.Dept. of Pharmacy, No.150 Central Hospital of PLA, Henan Luoyang 471031, China; 2.The Affiliated Middle School of Luoyang Institute of Science and Technology, Henan Luoyang 471031, China; 3.No.72660 Troops of PLA, Henan Sammenxia 472400, China)

**ABSTRACT** OBJECTIVE: To establish the method for rapid determination of ginsenoside Rg<sub>1</sub>, Re, Rb<sub>1</sub> in *Panax quinquefolius* crude slices. METHODS: HPLC method was adopted to determine the total contents of ginsenoside Rg<sub>1</sub>, Re, Rb<sub>1</sub> (as reference value). NIRS combined PLS algorithm were adopted to establish total quantitative correction model of ginsenoside Rg<sub>1</sub>, Re, Rb<sub>1</sub>. According to the reference, 62 samples were collected. The spectrum was pretreated with multivariate scattering correction method combined with first order derivative method. The optimal ranges of wave band for ginsenoside Rg<sub>1</sub>, Re, Rb<sub>1</sub> were 7 664.23-5 236.05 cm<sup>-1</sup>. RESULTS: Methodology validation for total content determination of ginsenoside Rg<sub>1</sub>, Re, Rb<sub>1</sub> was in line with the requirements. For total quantitative correction model of ginsenoside Rg<sub>1</sub>, Re, Rb<sub>1</sub>, related correction set coefficient was 0.991 03, corrected mean square deviation 0.010 26. CONCLUSIONS: The method is rapid, accurate, simple and free of contamination. It can be used for rapid determination of ginsenoside Rg<sub>1</sub>, Re, Rb<sub>1</sub> in *P. quinquefolius* crude slices.

**KEYWORDS** *Panax quinquefolius*; Ginsenoside; NIRS; PLS

西洋参 *Panax quinquefolius* 又称洋参、花旗参,为五加科植物西洋参的干燥根,具有补气养阴、清热生津的功效<sup>[1-3]</sup>。西洋参药材的主要活性物质为人参皂苷,现已分离出的皂苷按其母体结构分为4种类型:20(S)原人参二醇型、20(S)原人参三醇型、齐墩果烷型和奥克梯隆型,其中人参皂苷 Rb<sub>1</sub>、Re 属于20(S)原人参二醇型,人参皂苷 Rg<sub>1</sub> 属于20(S)原人参三醇型<sup>[4-6]</sup>。西洋参药材由于受地域、环境、气候等诸多因素的影响,品种繁多复杂,品质良莠不齐,因此通过测定西洋参药材中有效成分人参皂苷的含量来控制西洋参药材的质量是很有必

要的。

2015年版《中国药典》(一部)规定的西洋参饮片中人参皂苷 Rg<sub>1</sub>、Re、Rb<sub>1</sub>总含量的测定方法为高效液相色谱法(HPLC),该方法虽然准确度高,但饮片的前期处理非常烦琐,测定过程耗时较长<sup>[7]</sup>。近红外漫反射光谱技术(NIRS)是一种新兴的分析技术,具有操作费用低、样品前处理简单、测定速度快等优点<sup>[8-9]</sup>。因此,本试验采用NIRS结合偏最小二乘法(PLS)对西洋参饮片中的人参皂苷 Rg<sub>1</sub>、Re、Rb<sub>1</sub>的总含量进行定量测定,以达到快速检测西洋参饮片优劣的目的。

## 1 材料

### 1.1 仪器

Nicolet 6700 型 NIRS 仪(美国 Thermo Nicolet 公司);20A 型 HPLC 仪,包括 SPD-M20A 二极管阵列检测

<sup>Δ</sup> 基金项目:济南军区后勤科研面上项目(No.CJN15J074)

\* 药师,硕士。研究方向:药物分析。电话:0379-64169463。

E-mail: zuochunfang.818@163.com

# 通信作者:副主任药师。研究方向:医院药学。电话:0379-64169467。E-mail:407813267@qq.com

器(日本 Shimadzu 公司);XS105 型电子分析天平(瑞士 Mettler-Toledo 公司);RT-01 型粉碎机(浙江温岭市大海药材器械厂);DK-S14 型电热恒温水浴锅(上海森信实验仪器有限公司)。

## 1.2 试剂

人参皂苷 R<sub>g</sub><sub>1</sub> 对照品(批号:110703-201128,纯度 93.4%)、人参皂苷 Re 对照品(批号:110754-201324,纯度:92.7%)、人参皂苷 R<sub>b</sub><sub>1</sub> 对照品(批号:110704-201223,纯度:95.9%)均购自中国食品药品检定研究院;乙腈为色谱纯,其余试剂均为分析纯,水为纯化水。

## 1.3 饮片

62 份西洋参饮片购自洛阳不同药店(见表 1,表中未标明国家的地区即为中国),经解放军第 150 中心医院主任药师梁延春鉴定为真品。

表 1 西洋参饮片来源

Tab 1 Resource of *P. quinquefolius* crude slices

编号	产地	编号	产地	编号	产地
S1	吉林通化	S22	吉林抚松	S43	吉林长白县
S2	吉林集安	S23	美国威斯康辛州	S44	加拿大安大略
S3	山东文登	S24	加拿大安大略	S45	美国威斯康辛州
S4	北京怀柔	S25	吉林通化	S46	吉林长白县
S5	吉林集安	S26	美国威斯康辛州	S47	加拿大安大略
S6	吉林长白县	S27	美国威斯康辛州	S48	吉林集安
S7	吉林抚松	S28	吉林通化	S49	加拿大安大略
S8	吉林抚松	S29	吉林抚松	S50	吉林集安
S9	山东文登	S30	吉林抚松	S51	美国威斯康辛州
S10	北京怀柔	S31	吉林抚松	S52	吉林通化
S11	吉林集安	S32	吉林集安	S53	吉林抚松
S12	吉林集安	S33	加拿大安大略	S54	吉林长白县
S13	吉林抚松	S34	加拿大安大略	S55	吉林集安
S14	吉林通化	S35	北京怀柔	S56	吉林长白县
S15	吉林通化	S36	吉林通化	S57	吉林长白县
S16	吉林抚松	S37	吉林抚松	S58	吉林长白县
S17	吉林长白县	S38	山东文登	S59	北京怀柔
S18	吉林长白县	S39	吉林抚松	S60	美国威斯康辛州
S19	加拿大安大略	S40	山东文登	S61	加拿大安大略
S20	加拿大安大略	S41	吉林集安	S62	吉林抚松
S21	吉林抚松	S42	吉林集安		

## 2 方法与结果

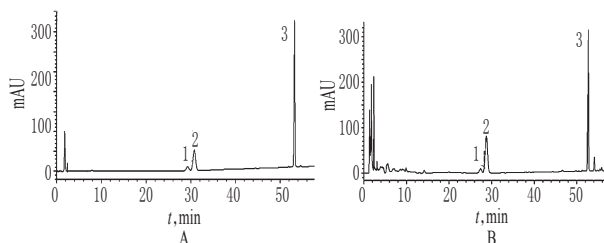
### 2.1 人参皂苷含量(参考值)测定

2.1.1 色谱条件与系统适用性试验 色谱柱: Intertsustain C<sub>18</sub>; 流动相: 乙腈(A)-0.1% 磷酸溶液(B), 梯度洗脱(见表 2); 流速: 1.0 mL/min; 检测波长: 203 nm; 柱温: 40 °C; 进样量: 10 μL。在上述色谱条件下, 理论板数以人参皂苷 R<sub>b</sub><sub>1</sub> 峰计 > 5 000; 各成分基线分离良好, 分离度 > 1.5, 色谱见图 1。

表 2 梯度洗脱程序

Tab 2 Gradient elution procedure

时间, min	A, %	B, %
0~25	19→20	81→80
25~60	20→40	80→60
60~90	40→55	60→45
90~100	55→60	45→40



A.混合对照品;B.供试品;1.人参皂苷 R<sub>g</sub><sub>1</sub>;2.人参皂苷 Re;3.人参皂苷 R<sub>b</sub><sub>1</sub>

A.mixed control; B.test sample; 1.ginsenoside R<sub>g</sub><sub>1</sub>; 2.ginsenoside Re; 3.ginsenoside R<sub>b</sub><sub>1</sub>

图 1 高效液相色谱图

Fig 1 HPLC chromatograms

2.1.2 混合对照品溶液的制备 精密称定待测成分各适量,置于 10 mL 量瓶中,加 50% 甲醇溶液定容,制成人参皂 R<sub>g</sub><sub>1</sub>、人参皂苷 Re、人参皂苷 R<sub>b</sub><sub>1</sub> 质量浓度分别为 0.094、0.388、0.968 mg/mL 的混合对照品溶液。

2.1.3 供试品溶液的制备 取饮片样品粉末适量,精密称定,约 1 g,置于锥形瓶中,加水饱和并正丁醇 50 mL,称定质量,水浴加热回流提取 1.5 h,放冷,再次称定质量,减失的质量用水饱和并正丁醇补足,摇匀,滤过。精密量取续滤液 25 mL,置于蒸发皿中,蒸干,残渣加 50% 甲醇溶液溶解,置于 10 mL 量瓶中,加 50% 甲醇溶液定容,摇匀,滤过,取续滤液,即得<sup>[8]</sup>。

2.1.4 方法学考察 按相关标准进行方法学试验,结果,精密度、稳定性、重复性试验中人参皂 R<sub>g</sub><sub>1</sub>、人参皂苷 Re、人参皂苷 R<sub>b</sub><sub>1</sub> 峰面积的 RSD 均 < 3.0%,表明仪器精密密度、溶液稳定性、方法重复性较好。

2.1.5 饮片样品中人参皂苷 R<sub>g</sub><sub>1</sub>、Re、R<sub>b</sub><sub>1</sub> 总含量的测定 取 62 批饮片样品各适量,分别按“2.1.3”项下方法制备供试品溶液,再按“2.1.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积并计算样品含量,结果见表 3。

### 2.2 NIRS 定量校正模型建立与验证

2.2.1 NIRS 的采集 取饮片样品粉末(过 4 号筛)约 5 g,置于石英样品杯中,混合均匀,轻轻摊平,以空气为参比,扣除背景采集 NIRS。采集条件:采样方式为积分球漫反射,分辨率为 8 cm<sup>-1</sup>,采集波段为 12 000~4 000 cm<sup>-1</sup>,扫描 32 次,温度为(25±2)°C,相对湿度为 45%~55%,重复操作 3 次。62 份饮片样品的近红外原始光谱叠加图见图 2。

2.2.2 校正集和验证集样品的选择 将表 3 中人参皂苷 R<sub>g</sub><sub>1</sub>、Re、R<sub>b</sub><sub>1</sub> 总含量分布情况输入 TQ Analyst 8.0 分析软件中,再随机选取 48 份样本作为校正集,14 份样本作为验证集,且验证集含量范围处于校正集含量范围之内,详见表 4。

2.2.3 光谱预处理方法的选择 以多元散射校正(MSC)、标准归一化法(SNV)、一阶导数法(FD)、二阶导数法(SD)等方法预处理光谱得不同校正集相关系数(R<sup>2</sup>)、校正均方差(RMSECV),详见表 5。

表3 饮片样品中人参皂苷Rg<sub>1</sub>、Re、Rb<sub>1</sub>总含量的测定结果(n=3, %)

Tab 3 Results of content determination of ginsenoside Rg<sub>1</sub>, Re, Rb<sub>1</sub> in samples(n=3, %)

编号	总含量	编号	总含量	编号	总含量
S1	3.169	S22	4.157	S43	5.179
S2	4.514	S23	6.634	S44	6.027
S3	3.484	S24	6.253	S45	6.803
S4	1.947	S25	1.872	S46	4.837
S5	4.692	S26	6.819	S47	6.128
S6	5.147	S27	7.157	S48	4.532
S7	3.813	S28	1.474	S49	6.078
S8	4.432	S29	4.182	S50	4.576
S9	3.512	S30	4.303	S51	6.493
S10	3.388	S31	4.478	S52	1.581
S11	4.633	S32	4.678	S53	4.053
S12	4.597	S33	6.223	S54	5.352
S13	3.953	S34	6.319	S55	4.508
S14	1.086	S35	2.370	S56	5.874
S15	1.103	S36	1.258	S57	4.932
S16	4.234	S37	4.278	S58	4.984
S17	5.346	S38	3.623	S59	2.327
S18	5.130	S39	3.834	S60	6.747
S19	6.078	S40	3.792	S61	5.947
S20	6.159	S41	4.493	S62	4.250
S21	4.447	S42	4.713		

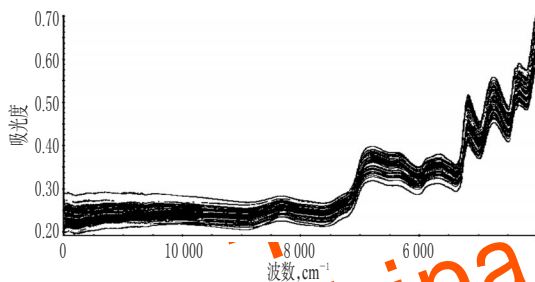


图2 62批饮片样品的近红外漫反射原始光谱叠加图  
Fig 2 NIRS superposed spectrum of 62 batches of samples

表4 校正集与验证集样品指标成分含量分布范围  
Tab 4 Distribution of target component contents of correction set and validation set

样品	样品数	含量范围, %	平均含量, %	标准偏差
校正集	48	1.086~7.157	4.561	1.485 1
验证集	14	1.103~6.159	4.290	1.620 6

表5 不同预处理方法对定量模型性能的影响  
Tab 5 Effects of different pretreatment methods on the performance of quantitative model

预处理方法	R <sup>2</sup>	RMSECV
MSC	0.862 03	0.026 54
SNV	0.948 56	0.022 89
SNV+FD	0.991 03	0.010 26
MSC + SD	0.785 51	0.026 58

运用TQ Analyst 8.0分析软件对表5数据进行处理, 结合偏最小二乘法(PLS)建立NIRS定量模型。选择R<sup>2</sup>、RMSECV为评价指标, 综合评价不同模型的准确性

与适用性。其中, RMSECV越小, 代表模型的预测精度越高, R<sup>2</sup>越接近1, 代表模型的预测准确性越高。结果表明, 以SNV+FD预处理后, 人参皂苷Rg<sub>1</sub>、Re、Rb<sub>1</sub>总定量模型效果最好, 可以消除多重光谱偏差, 对导数光谱进行微调处理, 最佳光谱预处理方法处理后得到NIRS, 详见图3。

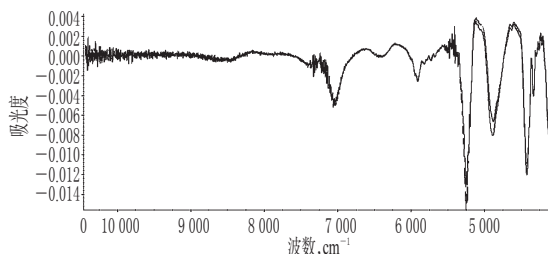


图3 预处理后的近红外漫反射光谱图  
Fig 3 Pretreated NIRS spectrum

2.2.4 模型波段的选择 分别采用SNV+FD对不同的波段进行手动优化比较, 通过TQ Analyst 8.0分析软件得人参皂苷Rg<sub>1</sub>、Re、Rb<sub>1</sub>总含量最佳波段为7 664.23~5 236.05 cm<sup>-1</sup>, 详见表6。

表6 不同波段对R<sup>2</sup>和RMSECV的影响

Tab 6 Effects of different spectral ranges on R<sup>2</sup> and RMSECV

波段, cm <sup>-1</sup>	R <sup>2</sup>	RMSECV
7 664.23~5 236.05	0.991 03	0.010 26
8 765.72~4 289.24	0.984 23	0.012 03
5 709.58 4~000.00	0.987 12	0.011 32
6 998.35~5 146.38	0.959 56	0.010 58

2.2.5 主成分数的选择 采用内部交叉验证法筛选主成分数, 选择RMSECV值最小时对应的主成分数为最佳主成分数。结果表明, 当人参皂苷Rg<sub>1</sub>、Re、Rb<sub>1</sub>总含量的RMSECV值(0.010 26)最小时, 主成分数为7, 详见图4。

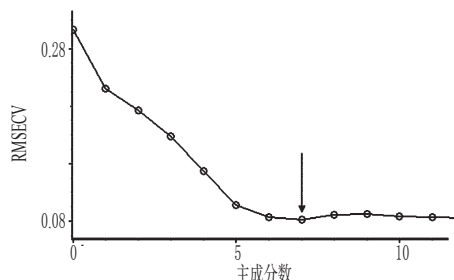


图4 主成分数对RMSECV的影响  
Fig 4 Effects of principal component fraction on RMSECV

2.2.6 定量模型的建立 运用TQ Analyst 8.0分析软件, 以SNV+FD对光谱预处理, 波段为7 664.23~5 236.05 cm<sup>-1</sup>, 主成分数为7, 结合PLS法建立人参皂苷Rg<sub>1</sub>、Re、Rb<sub>1</sub>总定量模型。定量模型预测值与参考值的相关性、偏差见图5、图6。结果表明, 校正集样品的结果均匀地分布在回归线的两侧, 校正集的预测值与参考值结果接近, 证明该模型建立成功。

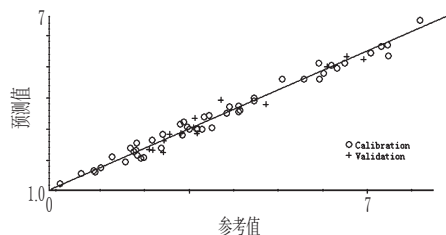


图5 定量模型预测值与参考值的相关性

Fig 5 Correlation between prediction value and reference value of quantitative model

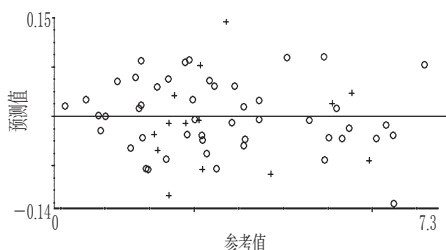


图6 定量模型预测值与参考值的偏差

Fig 6 Deviations between predicted and reference values of a quantitative model

2.2.7 定量模型的验证 将14批验证集样品的NIRS输入定量模型中,将测得的NIRS预测值与参考值进行比较,结果见表7。

表7 预测值与参考值比较结果

Tab 7 Compare the predicted values with the reference values

编号	参考值, %	预测值, %	绝对误差	预测回收率, %	平均回收率, %
1	4.514	4.651	-0.137	97.47	98.47
2	3.512	3.622	-0.11	95.90	
3	5.874	5.831	0.043	97.40	
4	5.352	5.428	-0.076	96.82	
5	6.078	5.982	0.096	103.33	
6	1.947	2.052	-0.105	90.47	
7	3.623	3.735	-0.112	97.00	
8	2.370	2.224	0.146	104.68	
9	4.678	4.610	0.068	103.73	
10	4.478	4.577	-0.099	97.84	
11	4.303	4.201	0.102	102.43	
12	6.159	6.096	0.063	101.70	
13	6.078	6.187	-0.109	98.24	
14	1.103	1.205	-0.102	91.54	

### 3 讨论

NIRS作为一种间接测定方法,首先要建立准确、可靠的模型,建立该模型的前提是要收集足够多的有代表性的样品。本试验收集了62批西洋参饮片,通过验证该模型表明可用于所收集的西洋参饮片中人参皂苷含量的测定,但是为了进一步提高模型的覆盖范围,下一步应尽量收集更多的西洋参饮片,完善所建模型。

本试验仅对西洋参饮片中人参皂苷 $R_g$ 、 $R_e$ 、 $R_b$ 总含量建立了NIRS定量模型,为了更好地控制饮片质量,在以后的工作中需对水分、浸出物、总灰分等检查项分别建立定量模型。

建立NIRS定量模型的过程是非常烦琐的,为了建立一个稳定的数学模型,必须对所建模型进行评价,本试验以 $R^2$ 、RMSECV为指标评价其精密度和准确度,结果可信。

综上所述,本方法快速准确,简便无污染,可用于西洋参饮片中人参皂苷 $R_g$ 、 $R_e$ 、 $R_b$ 总含量的快速测定。

### 参考文献

- [1] 德晟.补气养阴西洋参[J].衣食住行,2016(8):62-63.
- [2] 徐灿辉,何维为.西洋参保健食品中7种人参皂苷的高效液相色谱法测定[J].食品与药品,2015,37(4):273-277.
- [3] 张晓旭,马雪涛,胡蒙,等.超高效液相色谱法检测6种人参皂苷含量[J].中国食品学报,2015,15(5):241-246.
- [4] 闫玉梅,赵梅梅,王笑笑,等.RP-HPLC法同时测定西洋参含片中4种成分[J].西北药学杂志,2016,31(1):5-8.
- [5] 石楸鸣.人参皂苷的药理作用研究进展[J].中国药房,2010,21(31):2967-2969.
- [6] 孙娜,徐钢,徐珊,等.人参炮制对其化学成分的药理作用的影响[J].中国药房,2016,27(6):857-859.
- [7] 国家药典委员会.中华人民共和国药典:一部[S].2015年版.北京:中国医药科技出版社,2015:131-132.
- [8] 项彦华,孙淑娜,王磊,等.近红外光谱技术快速检测检测银杏叶中指标成分含量的研究[J].中国药物警戒,2015,12(12):744-747.
- [9] 周昭露,李杰,黄生权,等.近红外光谱技术在中药质量控制应用中的化学计量学建模:综述和展望[J].化工进展,2016,35(6):1627-1645.

(收稿日期:2017-03-27 修回日期:2017-04-27)

(编辑:张静)

《中国药房》杂志——中文核心期刊,欢迎投稿、订阅