

# 基于NIRS技术的款冬花药材质控指标定量分析模型的建立<sup>Δ</sup>

耿涛\*, 蒋文慧, 刘佳伦, 兰松平, 王柳璿, 陈佩林, 严寒静, 姬生国<sup>#</sup>(广东药科大学中药学院, 广州 510006)

中图分类号 R284;R917 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2024)09-1057-07

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2024.09.06



**摘要** 目的 建立基于近红外光谱(NIRS)技术的款冬花药材中款冬酮、水分、醇溶性浸出物和总灰分含量的定量分析模型,为款冬花药材及其制剂的快速质量评价提供新思路。方法 参照2020年版《中国药典》,分别采用高效液相色谱法、烘干法、热浸法及灰分测定法测定19个产地130批款冬花药材中主要质控指标款冬酮、水分、醇溶性浸出物、总灰分的含量,采集款冬花药材的NIRS数据信息,然后采用NIRS结合偏最小二乘法建立样品中上述质控指标的各个定量分析模型,经验证集样品验证后得到NIRS含量预测模型。结果 130批款冬花药材样品中款冬酮、水分、醇溶性浸出物和总灰分的含量范围分别为0.051 4%~0.103 5%、7.75%~10.93%、20.17%~31.12%、7.68%~12.10%。所建立的款冬花药材中款冬酮、水分、醇溶性浸出物和总灰分定量分析模型的内部交叉验证决定系数( $R^2$ )分别为0.985 8、0.968 4、0.973 4、0.988 0;校正集均方差(RMSEC)分别为0.001 54、0.187、0.478、0.127;预测均方差(RMSEP)分别为0.001 81、0.212、0.543、0.149;RMSEP/RMSEC分别为1.175 3、1.133 7、1.136 0、1.173 2,均在合理范围内( $1 < \text{RMSEP/RMSEC} \leq 1.2$ )。验证集样品中上述4个质控指标真实值与模型预测值的平均绝对误差分别为-0.000 36、0.061 43、0.144 00和0.010 43,平均预测回收率分别为99.65%、100.72%、100.66%和100.15%。结论 所建NIRS定量分析模型稳定性好、测定结果可靠,可用于款冬花药材中相关质控指标含量的快速批量预测。

**关键词** 款冬花;近红外光谱技术;款冬酮;快速分析;定量分析模型;质量评价

## Establishment of quantitative analysis model for quality control indexes of Farfarae Flos based on NIRS

GENG Tao, JIANG Wenhui, LIU Jialun, LAN Songping, WANG Liuying, CHEN Peilin, YAN Hanjing, JI Shengguo (School of Chinese Materia Medica, Guangdong Pharmaceutical University, Guangzhou 510006, China)

**ABSTRACT** **OBJECTIVE** To establish a quantitative analysis model for the contents of tussilagone, moisture, ethanol-soluble extract and total ash in Farfarae Flos based on near-infrared spectroscopy (NIRS), providing a new idea for the rapid quality evaluation of Farfarae Flos and its preparations. **METHODS** Referring to the 2020 edition of the *Chinese Pharmacopoeia*, the contents of the main quality control indexes tussilagone, moisture, ethanol-soluble extract and total ash in 130 batches of Farfarae Flos from 19 producing areas were determined by HPLC, drying method, hot dip method and ash assay, respectively. The NIRS data information of the medicinal herbs of Farfarae Flos was collected, and then NIRS combined with the partial least squares method was used to establish the individual quantitative analysis models of the above quality control indexes in the samples, and the predictive model of the NIRS content was obtained after sample validation with validation set. **RESULTS** The range for the contents of tussilagone, moisture, ethanol-soluble extract and total ash in 130 batches of Farfarae Flos were 0.051 4%-0.103 5%, 7.75%-10.93%, 20.17%-31.12%, and 7.68%-12.10%, respectively. The internal cross-validation coefficients of determination ( $R^2$ ) of the established models for the quantitative analysis of tussilagone, moisture, ethanol-soluble extract and total ash in Farfarae Flos were 0.985 8, 0.968 4, 0.973 4, 0.988 0, respectively; the root mean square errors of calibration (RMSEC) were 0.001 54, 0.187, 0.478, 0.127, respectively; the root mean square errors of prediction (RMSEP) were 0.001 81, 0.212, 0.543, 0.149, respectively; RMSEP/RMSEC were 1.175 3, 1.133 7, 1.136 0 and 1.173 2, respectively, which were all within a reasonable range ( $1 < \text{RMSEP/RMSEC} \leq 1.2$ ). The mean absolute errors between the true and model-predicted values of the above four quality control indexes in the validation set of samples were -0.000 36, 0.061 43, 0.144 00, and 0.010 43, respectively, and the mean predicted recoveries were 99.65%, 100.72%, 100.66%, and 100.15%, respectively. **CONCLUSIONS** The established NIRS quantitative analysis model has high stability

<sup>Δ</sup>基金项目 国家自然科学基金项目(No.81773829);广东省科技计划项目(No.2019A141405024);广州市科技计划项目(No.202002020071)

\*第一作者 硕士研究生。研究方向:中药资源开发与品质评价。E-mail:495392871@qq.com

#通信作者 教授,硕士生导师,博士。研究方向:中药资源、中药质量标准、中药新药研究。电话:020-39353119。E-mail:shengguo\_ji@gdpu.edu.cn

and reliable results, which can be used for the rapid batch prediction of the content of relevant quality control indexes in Farfarae Flos.

**KEYWORDS** Farfarae Flos; near-infrared spectroscopy; tussilagone; rapid analysis; quantitative analysis model; quality evaluation

款冬花(Farfarae Flos)为菊科植物款冬 *Tussilago farfara* L. 的干燥花蕾,主要分布在我国华北、西北、西南地区,主产于甘肃、陕西、河北、山西等地。本品始载于《神农本草经》,列为中品,有润肺下气、止咳化痰之功效,临床多用于治疗新久咳嗽、喘咳痰多等证<sup>[1]</sup>,是通宣理肺丸、百花定喘丸等中成药的重要原料药<sup>[2]</sup>。现代药理学研究表明,款冬花及其提取物具有抗炎、抗肿瘤、抗结核、呼吸兴奋及神经保护等药理活性<sup>[3-4]</sup>。款冬酮是款冬花的主要活性成分之一,也是其质量评价的重要指标。2020年版《中国药典》规定款冬花中款冬酮的含量不得少于0.070%,醇溶性浸出物含量不得少于20.0%,但对其水分及总灰分的含量没有明确规定<sup>[1]</sup>。《香港中药材标准》(第五期)对款冬花的水分和总灰分含量有明确规定,要求其水分不得超过11%,总灰分不得超过11%<sup>[5]</sup>。

以往的研究在对款冬花进行质量评价时,通常采用的是以高效液相色谱法测定款冬酮的含量,以烘干法、热浸法等方法测定药材中水分、浸出物及总灰分的含量,但上述方法在实际操作时通常具有程序繁琐、消耗大量有机试剂、耗时耗力等缺陷。近红外光谱(near-infrared spectroscopy, NIRS)法作为一种绿色环保、便捷、高效的分析方法,可以改善上述试验操作中的弊端,目前已广泛应用于中药材或中药制剂的质量评价中<sup>[6-7]</sup>。本课题组十余年来一直从事NIRS应用于中药材及中药制剂的质量评价研究工作,已经对高良姜<sup>[8]</sup>、夏枯草<sup>[9]</sup>、何首乌<sup>[10]</sup>、阳春砂<sup>[11]</sup>、益智<sup>[12]</sup>、穿心莲<sup>[13]</sup>、辛夷<sup>[14]</sup>等药材进行了相关研究。本研究采用NIRS技术结合偏最小二乘(partial least squares, PLS)法建立了款冬花药材质控指标定量分析模型,旨在为该药材及其制剂的快速质量检测提供可靠的技术和方法。

## 1 材料

### 1.1 主要仪器

TANGO型傅里叶变换NIRS仪购自布鲁克(北京)科技有限公司;1120型高效液相色谱仪、AY120型十万分之一天平购自日本岛津公司;TQ-Analyst光谱分析软件购自美国Thermo Fisher Scientific公司;DELTA-D150型数显超声清洗机购自上海旦鼎国际贸易有限公司;Q/ZT153-1998型电热鼓风恒温干燥器购自浙江正泰仪器仪表有限公司;HH-6型数显恒温水浴锅购自上海力辰邦西仪器科技有限公司。

### 1.2 主要药品与试剂

款冬酮对照品(批号 MUST-21101304,纯度 $\geq$ 98.89%)购自成都曼斯特生物科技有限公司;甲醇为色谱纯,水为蒸馏水,其余试剂均为分析纯。实验用药材于2021年12月至2022年3月分别收集于陕西、甘肃、河北等种植基地,经广东药科大学中药学院姬生国教授鉴定为菊科植物款冬 *T. farfara* L. 的干燥花蕾。样品来源信息见表1。药材经低温干燥后粉碎,过四号筛,置于自封袋中,保存在干燥器中备用。

表1 各批次款冬花药材样品的来源信息

编号	产地	收集时间
S1~S10	河南省新乡市	2022年3月
S11~S20	内蒙古自治区通辽市	2022年3月
S21~S30	河北省张家口市蔚县	2022年2月
S31~S40	四川省广元市旺苍县	2022年2月
S41~S50	陕西省榆林市	2021年12月
S51~S60	山西省长治市沁县	2022年2月
S61~S70	云南省昆明市石林彝族自治县	2022年3月
S71~S75	甘肃省天水市	2021年12月
S76~S80	甘肃省定西市陇西县	2021年12月
S81~S85	甘肃省定西市渭源县	2021年12月
S86~S90	甘肃省陇南市西和县	2022年2月
S91~S95	甘肃省陇南市汉王镇	2022年2月
S96~S100	甘肃省临夏回族自治州和政县	2022年2月
S101~S105	安徽省六安市金寨县	2021年12月
S106~S110	山东省菏泽市	2021年12月
S111~S115	湖北省十堰市	2022年3月
S116~S120	辽宁省本溪市	2022年3月
S121~S125	新疆维吾尔自治区伊犁哈萨克自治州霍城县	2022年3月
S126~S130	浙江省杭州市临安区	2022年3月

## 2 方法与结果

### 2.1 款冬酮的含量测定

#### 2.1.1 色谱条件

色谱柱为 ODS-C<sub>18</sub>(4.6 mm×250 mm, 5 μm);流动相为水-甲醇(15:85, V/V);柱温为30℃;流速为1 mL/min;检测波长为220 nm;进样量为20 μL。

#### 2.1.2 款冬酮对照品溶液的制备

精密称取款冬酮对照品5.88 mg,置50 mL容量瓶中,加甲醇溶解并稀释至刻度,制成质量浓度为117.60 μg/mL的款冬酮对照品溶液。

#### 2.1.3 供试品溶液的制备

取款冬花药材粉末1 g,精密称定,置具塞锥形瓶中,精密加入乙醇20 mL,称定质量,超声提取(功率200 W,频率40 kHz)1 h,放冷,再称定质量,用乙醇补足减失的质量,摇匀,滤过,取续滤液,即得供试品溶液。

### 2.1.4 系统适用性考察

取上述对照品溶液、供试品溶液及空白溶液(乙醇),按“2.1.1”项下色谱条件进样测定,记录色谱图(图1,空白图略)。结果显示,供试品在与对照品溶液中款冬酮相同的出峰位置处有色谱峰出现;款冬酮色谱峰的峰形稳定,与供试品溶液中的其他色谱峰能达到基线分离,理论板数为12 075。

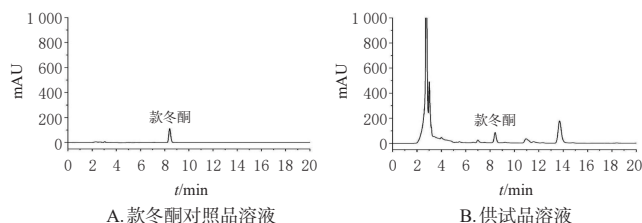


图1 款冬酮含量测定的高效液相色谱图

### 2.1.5 线性关系考察

取“2.1.2”项下款冬酮对照品溶液0.5、1.0、2.0、4.0、6.0 mL,分别置于10 mL容量瓶中,用甲醇稀释并定容,摇匀,得款冬酮质量浓度分别为5.88、11.76、23.52、47.04、70.56  $\mu\text{g/mL}$ 的系列线性溶液。取上述系列溶液和款冬酮对照品溶液,按“2.1.1”项下色谱条件进样分析,记录峰面积。以对照品溶液的质量浓度( $X$ )为横坐标、峰面积( $Y$ )为纵坐标进行线性回归分析,得回归方程为 $Y=48\ 417.62X-25\ 352(r=0.999\ 9)$ 。结果表明,款冬酮的检测质量浓度在5.88~117.60  $\mu\text{g/mL}$ 范围内与峰面积成良好的线性关系。

### 2.1.6 精密密度考察

取“2.1.2”项下款冬酮对照品溶液,按“2.1.1”项下色谱条件连续进样测定6次,记录峰面积。结果显示,款冬酮峰面积的RSD为0.51%( $n=6$ ),说明仪器精密密度良好。

### 2.1.7 稳定性考察

取编号S41的样品,按“2.1.3”项下方法制备供试品溶液,分别于室温下放置0、2、4、8、12、24 h时按“2.1.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积。结果显示,款冬酮峰面积的RSD为0.50%( $n=6$ ),说明供试品溶液在室温下放置24 h内稳定性良好。

### 2.1.8 重复性考察

取编号S41的样品6份,分别按“2.1.3”项下方法制备供试品溶液,按“2.1.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积,以外标法计算样品含量。结果显示,样品中款冬酮的平均含量为0.085 1%,RSD为0.63%( $n=6$ ),说明该方法重复性良好。

### 2.1.9 加样回收率试验

精密称取编号S41的样品(款冬酮含量为0.085 1%)0.5 g,共6份,精密加入含量约为样品含量100%的对照

品0.5 mg,按“2.1.3”项下方法制备供试品溶液,按“2.1.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积,并计算加样回收率。结果显示,款冬酮的平均加样回收率为100.72%,RSD为0.97%( $n=6$ ),说明该方法准确度良好。

### 2.1.10 样品含量测定

取各批次样品粉末,分别按“2.1.3”项下方法制备供试品溶液,按“2.1.1”项下色谱条件进样分析,记录峰面积,以外标法按干燥品计算样品中款冬酮的含量,平行测定3次,取平均值。结果见表2。

表2 各批次款冬花药材样品中款冬酮的含量测定结果( $n=3, \%$ )

编号	含量	编号	含量	编号	含量	编号	含量
S1	0.082 3	S34	0.087 4	S67	0.081 8	S100	0.070 8
S2	0.082 5	S35	0.087 8	S68	0.080 4	S101	0.083 5
S3	0.083 8	S36	0.086 3	S69	0.078 6	S102	0.083 3
S4	0.083 8	S37	0.086 2	S70	0.081 2	S103	0.082 2
S5	0.082 4	S38	0.086 9	S71	0.077 1	S104	0.082 5
S6	0.082 2	S39	0.089 1	S72	0.080 9	S105	0.082 6
S7	0.081 3	S40	0.089 9	S73	0.078 2	S106	0.099 7
S8	0.084 4	S41	0.085 1	S74	0.079 7	S107	0.100 5
S9	0.082 7	S42	0.085 1	S75	0.080 0	S108	0.100 8
S10	0.085 3	S43	0.086 0	S76	0.074 9	S109	0.099 9
S11	0.072 7	S44	0.085 3	S77	0.074 5	S110	0.099 6
S12	0.072 7	S45	0.086 5	S78	0.072 9	S111	0.089 1
S13	0.075 7	S46	0.086 1	S79	0.073 5	S112	0.086 6
S14	0.071 6	S47	0.085 1	S80	0.073 8	S113	0.089 5
S15	0.071 0	S48	0.086 6	S81	0.083 3	S114	0.087 8
S16	0.075 4	S49	0.084 9	S82	0.083 1	S115	0.088 4
S17	0.075 2	S50	0.087 1	S83	0.084 4	S116	0.103 5
S18	0.074 2	S51	0.100 5	S84	0.081 5	S117	0.103 1
S19	0.073 7	S52	0.099 7	S85	0.082 0	S118	0.102 5
S20	0.077 1	S53	0.096 9	S86	0.079 8	S119	0.102 2
S21	0.098 1	S54	0.097 4	S87	0.082 5	S120	0.102 7
S22	0.095 5	S55	0.097 5	S88	0.078 9	S121	0.051 6 <sup>a</sup>
S23	0.094 0	S56	0.099 5	S89	0.081 8	S122	0.051 8 <sup>a</sup>
S24	0.096 3	S57	0.099 7	S90	0.081 2	S123	0.051 4 <sup>a</sup>
S25	0.097 0	S58	0.102 2	S91	0.082 3	S124	0.051 5 <sup>a</sup>
S26	0.095 9	S59	0.101 4	S92	0.079 5	S125	0.051 4 <sup>a</sup>
S27	0.096 3	S60	0.101 0	S93	0.080 0	S126	0.061 8 <sup>a</sup>
S28	0.096 8	S61	0.077 3	S94	0.081 2	S127	0.064 0 <sup>a</sup>
S29	0.095 9	S62	0.081 9	S95	0.082 1	S128	0.062 5 <sup>a</sup>
S30	0.095 5	S63	0.076 7	S96	0.071 3	S129	0.062 7 <sup>a</sup>
S31	0.088 9	S64	0.076 5	S97	0.070 2	S130	0.063 4 <sup>a</sup>
S32	0.089 0	S65	0.080 5	S98	0.070 9		
S33	0.090 1	S66	0.076 9	S99	0.070 5		

a: 不符合2020年版《中国药典》对款冬花中款冬酮的含量规定(不得少于0.070 0%)。

## 2.2 水分、醇溶性浸出物及总灰分的含量测定

参照2020年版《中国药典》(四部)通则0832水分测定法中的烘干法测定样品中水分含量,以通则2201浸出物测定法下的热浸法测定样品中醇溶性浸出物含量,以通则2302灰分测定法测定样品中总灰分含量。平行测定3次,取平均值。结果见表3。

表3 各批次款冬花药材样品中水分、醇溶性浸出物及总灰分含量测定结果(n=3,%)

编号	水分	醇溶性浸出物	总灰分	编号	水分	醇溶性浸出物	总灰分	编号	水分	醇溶性浸出物	总灰分
S1	10.25	24.46	8.83	S45	9.68	20.54	8.19	S89	10.37	22.90	12.06 <sup>a</sup>
S2	9.99	24.93	8.86	S46	9.66	22.58	8.09	S90	10.23	22.30	12.10 <sup>a</sup>
S3	9.98	25.27	8.87	S47	9.45	20.96	8.14	S91	10.43	25.41	10.59
S4	10.17	24.22	8.79	S48	9.56	22.96	8.18	S92	10.19	25.62	10.57
S5	9.61	23.55	8.76	S49	9.50	21.36	8.24	S93	10.39	26.18	10.63
S6	9.68	22.70	8.89	S50	9.15	21.49	7.90	S94	10.08	26.08	10.55
S7	9.77	24.55	8.85	S51	9.40	23.34	7.97	S95	10.29	23.31	10.53
S8	10.02	25.15	8.73	S52	9.14	22.64	7.91	S96	9.58	23.19	11.34 <sup>a</sup>
S9	10.06	23.61	8.71	S53	9.04	22.38	7.88	S97	9.54	24.45	11.34 <sup>a</sup>
S10	9.85	24.20	8.89	S54	9.23	22.61	8.01	S98	9.62	26.36	11.40 <sup>a</sup>
S11	10.52	23.67	9.36	S55	9.17	22.48	7.92	S99	9.41	23.97	11.51 <sup>a</sup>
S12	10.11	22.24	9.29	S56	9.28	22.06	7.91	S100	9.36	23.29	11.53 <sup>a</sup>
S13	10.13	21.47	9.33	S57	9.54	22.37	7.88	S101	9.89	23.88	8.05
S14	9.97	20.91	9.31	S58	9.33	21.97	7.91	S102	9.86	25.33	8.15
S15	9.74	20.30	9.29	S59	9.01	22.39	8.16	S103	9.77	26.17	8.13
S16	9.71	21.39	9.20	S60	9.12	21.99	8.18	S104	9.78	23.36	8.17
S17	9.59	22.42	9.14	S61	7.85	28.52	8.38	S105	9.97	24.58	8.06
S18	9.54	24.91	9.24	S62	7.93	27.80	8.27	S106	10.21	25.35	9.50
S19	9.65	25.09	9.39	S63	7.75	27.77	8.49	S107	10.35	26.41	9.30
S20	9.74	25.95	9.30	S64	7.95	25.98	8.44	S108	10.42	27.24	9.20
S21	10.58	24.40	7.75	S65	7.96	26.58	8.26	S109	10.44	24.85	9.23
S22	10.65	23.82	7.68	S66	8.82	25.72	8.35	S110	10.29	26.04	9.25
S23	10.66	24.25	7.96	S67	8.27	26.13	8.28	S111	10.24	20.17	9.83
S24	10.62	23.39	7.73	S68	8.62	24.89	8.30	S112	10.44	20.67	9.79
S25	10.76	23.58	7.78	S69	8.09	24.52	8.32	S113	10.81	22.88	9.84
S26	10.80	23.60	7.90	S70	8.55	24.19	8.30	S114	10.93	21.03	9.83
S27	10.71	23.55	7.80	S71	10.49	23.93	8.02	S115	10.60	20.19	9.81
S28	10.66	23.59	7.78	S72	10.68	25.22	7.91	S116	8.72	24.45	10.73
S29	10.50	22.79	7.96	S73	10.21	26.40	8.00	S117	8.48	24.36	10.62
S30	10.78	23.09	7.78	S74	10.28	23.48	8.16	S118	8.60	24.22	10.76
S31	9.65	22.34	9.20	S75	10.09	24.93	7.99	S119	8.24	24.25	10.50
S32	9.56	22.59	9.24	S76	8.17	24.21	7.92	S120	8.35	22.95	10.61
S33	9.48	22.53	9.22	S77	8.02	25.62	7.87	S121	10.26	25.69	8.62
S34	9.55	27.05	9.24	S78	8.22	25.93	7.94	S122	9.97	27.28	8.31
S35	9.50	21.44	9.20	S79	8.05	25.07	7.98	S123	10.22	24.77	8.79
S36	9.57	26.17	9.27	S80	7.99	24.17	7.87	S124	9.77	23.03	8.66
S37	9.41	23.21	9.19	S81	9.60	29.38	9.41	S125	9.62	23.03	8.56
S38	9.37	24.65	9.18	S82	9.53	30.09	9.34	S126	10.40	25.06	9.34
S39	9.36	21.48	9.21	S83	9.95	31.12	9.50	S127	9.59	28.24	9.39
S40	9.70	24.47	9.26	S84	9.49	29.98	9.47	S128	9.87	24.97	9.37
S41	9.46	23.88	8.14	S85	9.81	28.88	9.46	S129	9.58	24.08	9.46
S42	9.40	22.14	8.08	S86	9.89	21.94	11.89 <sup>a</sup>	S130	9.34	24.96	9.50
S43	9.37	21.92	8.10	S87	10.18	21.09	11.94 <sup>a</sup>				
S44	9.71	20.66	8.20	S88	10.38	22.21	11.95 <sup>a</sup>				

a: 不符合《香港中药材标准》(第五期)对款冬花中总灰分的含量规定(不得超过11.00%)。

### 2.3 NIRS的采集

取约2/3样品杯的样品粉末,缓慢倒进石英样品杯中,用震动工具轻轻敲打杯体边缘,使样品均匀分布。测样前以空气作空白对照,扫描扣除空气背景干扰,并保持环境温度在(24±0.5)℃、相对湿度在20%~35%。采用积分球漫反射测样,仪器参数设置为:分辨率8 cm<sup>-1</sup>,扫描64次,扫描范围12 000~4 000 cm<sup>-1</sup>。每个测试样品平行扫描5次,求平均值。款冬花样品的NIRS图见图2。

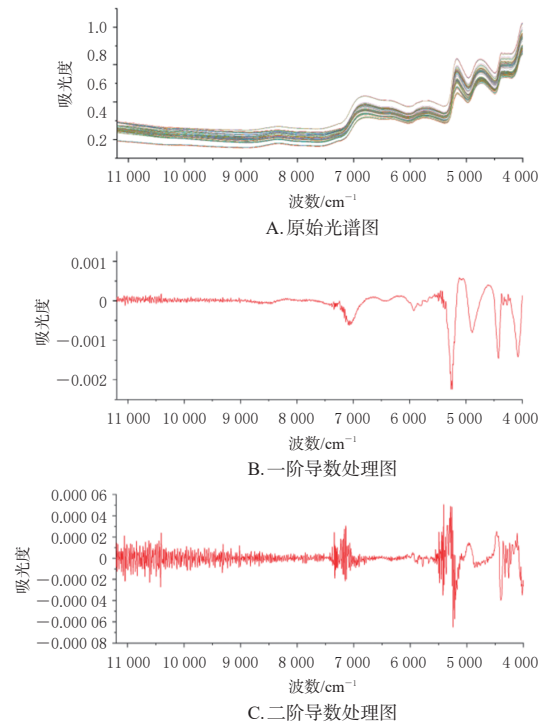


图2 款冬花药材样品的原始光谱图和导数处理图

## 2.4 样品质控指标NIRS定量分析模型的建立

### 2.4.1 样品集的划分

根据表2、表3含量测定结果将各质控指标含量不合格的样品及同一产地中含量差异较大的样品剔除,根据各指标的含量分布情况,均匀选择其中约4/5的样品作为校正集,其余样品作为验证集。样品集划分情况见表4。

表4 样品集中各质控指标的含量分布

指标	数据集	样本数量	含量最大值/%	含量最小值/%	平均含量/%	SD
款冬酮	校正集	99	0.103 5	0.070 2	0.085 4	0.01
	验证集	21	0.102 2	0.070 9	0.086 5	0.01
水分	校正集	95	10.81	7.75	9.62	0.75
	验证集	21	10.44	7.96	9.45	0.62
醇溶性浸出物	校正集	94	31.12	20.19	23.90	2.08
	验证集	20	28.88	20.66	23.67	1.75
总灰分	校正集	97	10.76	7.68	8.77	0.82
	验证集	23	10.73	7.78	8.86	0.82

### 2.4.2 光谱预处理和建模波段的选择

NIRS的原始光谱数据信息通常包括无用的数据信息,如基线漂移和样品破碎粒度、样品颜色、仪器状态等造成的噪声。为了使构建的模型精确、稳定,进行光谱预处理至关重要。多元散射校正(multiplicative signal correction, MSC)、标准归一化(standard normal variate, SNV)法、一阶导数(first derivative)、二阶导数(second derivative)、Savitzky-Golay平滑(Savitzky-Golay filter, SG)、导数滤波平滑(Norris derivative filter, ND)等均为常用的光谱预处理方法<sup>[15-16]</sup>。使用PLS法建立NIRS模型时,应以决定系数(R<sup>2</sup>)、校正集均方差(root mean square error of calibration, RMSEC)和预测均方差(root

mean square error of prediction, RMSEP)等评价参数用作评估模型质量的标准。当 $R^2$ 越接近1, RMSEC、RMSEP越小,且 $1 < \text{RMSEP}/\text{RMSEC} \leq 1.2$ 时,模型越稳定,预测精度越好<sup>[17-18]</sup>。综合上述各评价参数以确立最优的校正模型,可得款冬花中款冬酮定量模型的最佳光谱预处理方法为MSC+second derivative+ND,水分定量模型的最佳光谱预处理方法为MSC+second derivative,醇溶性浸出物定量模型的最佳光谱预处理方法为SNV+first derivative,总灰分定量模型的最佳光谱预处理方法为SNV+SG。

由图2可知,款冬花药材样品在9 000~6 000、6 000~4 000  $\text{cm}^{-1}$ 波段的吸光度值变化明显,包含了丰富的化学信息。为保证样品光谱信息的全面应用,本研究根据样品在NIRS区的吸光度值选取5个波段(11 200~4 000、9 000~4 000、6 000~4 000、9 000~6 000、11 200~6 000  $\text{cm}^{-1}$ )进行考察,并结合模型评价参数选择建模区间。结果可得,为款冬花中款冬酮和醇溶性浸出物选择9 000~4 000  $\text{cm}^{-1}$ 的波段建模时,模型的评价参数最佳;为其水分和总灰分选择11 200~4 000  $\text{cm}^{-1}$ 的波段建模时,模型的评价参数最佳。

### 2.4.3 主因子数的选择

采用PLS建模过程中,主因子数的选择对模型的预测准确性有重要影响,取不同的主因子数建模时,模型的交叉验证均方差(root mean square error of cross validation, RMSECV)值会有所不同,而RMSECV值越小,模型的预测精确度就越高<sup>[9]</sup>。本研究利用TQ Analyst软件进行分析,通过交叉验证确定模型的主因子数,结果显示,款冬花中款冬酮、水分、醇溶性浸出物和总灰分定量模型的最佳主因子数分别为10、2、7、13,对应的RMSECV值分别为0.003 68、0.551 01、1.207 02、0.211 37,详见图3。

### 2.4.4 NIRS定量分析模型的建立

利用TQ Analyst软件对款冬花药材样品的NIRS数据进行预处理,选择最佳建模波段和最佳主因子数,分别建立款冬花质控指标款冬酮、水分、醇溶性浸出物和总灰分的NIRS定量分析模型。结果显示,4个定量分析模型的 $R^2$ 分别为0.985 8、0.968 4、0.973 4、0.988 0;RMSEC分别为0.001 54、0.187、0.478、0.127;RMSEP分别为0.001 81、0.212、0.543、0.149;RMSEP/RMSEC分别为1.175 3、1.133 7、1.136 0、1.173 2,均在合理范围内( $1 < \text{RMSEP}/\text{RMSEC} \leq 1.2$ )。综合各评价参数可知,所建立的款冬花药材中4个质控指标定量分析模型的预测精度较好,模型稳定可靠。款冬花各质控指标真实值与NIRS模型预测值的相关性见图4。

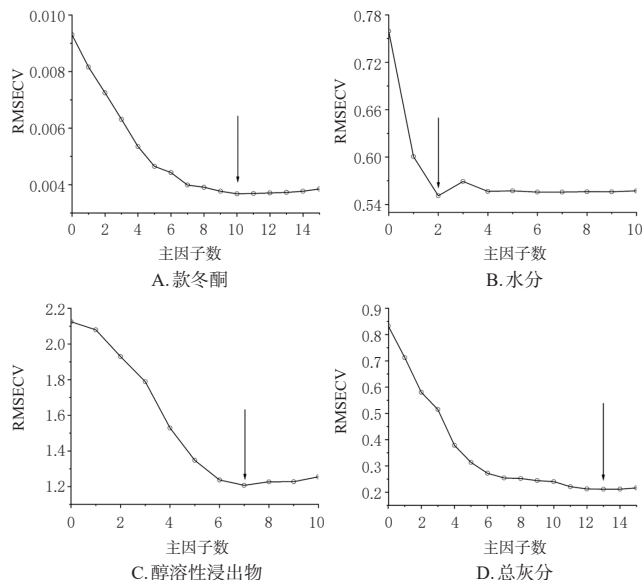


图3 款冬花药材各质控指标的主因子数随RMSECV值的变化图

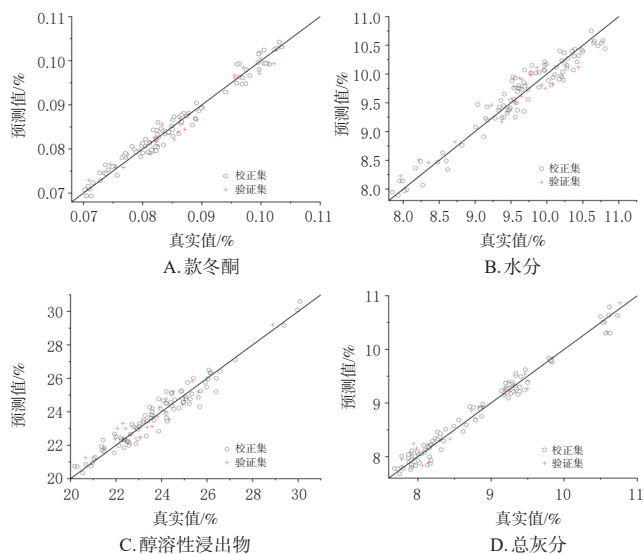


图4 款冬花各质控指标真实值与预测值的相关性

### 2.4.5 模型的外部验证与评价

为了验证所建模型的预测准确性,本研究使用所建模型来测定建模中未涉及的验证集样品。用NIRS模型的预测值与实测值的比值表示预测回收率,计算验证集样品中各质控指标的平均预测回收率。验证集样品质控指标含量真实值与NIRS模型预测值的平均绝对误差及平均预测回收率见表5。表5结果表明,所建NIRS模型对验证集样品的预测能力较强、预测结果准确。

表5 验证集样品各质控指标的验证结果

指标	款冬酮	水分	醇溶性浸出物	总灰分
平均绝对误差/%	-0.000 36	0.061 43	0.144 00	0.010 43
平均预测回收率/%	99.65	100.72	100.66	100.15

### 3 讨论

本研究测定了19个产地共130批款冬花药材中款冬酮、水分、醇溶性浸出物和总灰分4个质控指标的含量。其中,款冬酮的含量为0.051 4%~0.103 5%,均值为0.083 4%;产于河北省张家口市蔚县、山西省长治市沁县、山东省菏泽市和辽宁省本溪市的样品中款冬酮含量较高,为0.094 0%~0.103 5%,均值为0.099 0%;产于新疆维吾尔自治区伊犁哈萨克自治州霍城县和浙江省杭州市临安区的样品中款冬酮含量较低,为0.051 4%~0.064 0%,均值为0.057 2%,低于2020年版《中国药典》规定。各批次样品中醇溶性浸出物含量为20.17%~31.12%,均值为24.11%,均符合2020年版《中国药典》规定。各批次样品中水分含量为7.75%~10.93%,均值为9.65%;总灰分含量为7.68%~12.10%,均值为9.01%。参照《香港中药材标准》(第五期)中款冬花药材水分及总灰分的规定,所有样品中的水分含量均符合要求;而产于甘肃省陇南市西和县、甘肃省临夏回族自治州和政县的样品中总灰分含量为11.34%~12.10%,均值为11.71%,不符合该规定。本研究结果表明,不同产地的款冬花药材样品,其质量存在一定差异,这可能是由于植物生长的土壤、气候、生境等因素均会对药材的质量产生影响;部分样品的质控指标含量不符合相关标准,还可能因为药材在采收、加工、炮制、运输、储藏等环节中存在不规范操作,导致有效成分损失和杂质含量增加。

NIRS不能直接对样品含量进行测定,在建立分析模型时,必须使用传统的分析方法来获得样品中待测成分的含量结果,然后结合PLS等化学计量学方法建立模型,最后才可以对未知样品成分含量进行预测。由于NIRS主要反映的是样品中化学成分C—H、O—H、N—H等含氢基团产生的吸收信息,因此可以应用NIRS对大部分中药材进行分析,建立其质控指标的定量分析模型,然后将中药材NIRS信息直接导入定量分析模型,即可快速预测其质控指标的含量。NIRS不适用于无法获得大量样品的样品,因为在建模时,为保证所建模型稳定可靠,需要收集大量的样品,以涵盖不同样品的特征。本研究收集了19个产地130批款冬花药材样品,能基本涵盖不同产地款冬花药材的NIRS特征及质控成分含量存在的差异。此外,还需要定期对所建立的NIRS分析模型进行校准,补充其他产地的样品信息,以适应样品可能存在的变化。

综上所述,本研究利用NIRS技术结合PLS,通过选择最佳光谱预处理方法、建模波段及主因子数,建立了19个产地130批款冬花药材样品中款冬酮、水分、醇溶

性浸出物和总灰分含量的NIRS定量分析模型。经参数评价和验证集样本验证结果可知,所建立的NIRS模型对各质控指标的含量预测结果均较为准确,说明所建模型稳定性好、测定结果可靠,可以应用于款冬花药材中款冬酮、水分、醇溶性浸出物和总灰分含量的快速批量预测,为款冬花药材及其制剂的快速质量评价提供了新思路、新方法。

### 参考文献

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典:一部[M]. 2020年版.北京:中国医药科技出版社,2020:346.  
National Pharmacopoeia Commission. Pharmacopoeia of the People's Republic of China: part one[M]. 2020 edition. Beijing: China Medical Technology Press, 2020:346.
- [2] 林鑫,李成义,贾妙婷,等. 款冬花化学成分和药理作用研究进展及其质量标志物预测分析[J]. 中华中医药学刊,2023,41(5):131-140.  
LIN X, LI C Y, JIA M T, et al. Research progress on chemical constituents and pharmacological effects of Kuandonghua (Farfarae Flos) and prediction and analysis of its quality markers[J]. Chin Arch Tradit Chin Med, 2023,41(5):131-140.
- [3] 侯阿娇,郭新月,满文静,等. 款冬花的化学成分及药理作用研究进展[J]. 中医药信息,2019,36(1):107-112.  
HOU A J, GUO X Y, MAN W J, et al. Research progress of chemical compositions and pharmacological effects of Farfarae Flos[J]. Inf Tradit Chin Med, 2019, 36(1):107-112.
- [4] 刘宜峰,杨华,曹磊,等. 款冬花多糖通过调控miR-99a/PI3K/Akt通路影响食管癌细胞增殖、迁移和侵袭[J]. 中成药,2020,42(8):2161-2165.  
LIU Y F, YANG H, CAO L, et al. Farfara polysaccharide affects the proliferation, migration and invasion of esophageal cancer cells by regulating miR-99a/PI3K/Akt pathway[J]. Chin Tradit Pat Med, 2020, 42(8):2161-2165.
- [5] 中华人民共和国香港特别行政区卫生署. 香港中药材标准:第五期[EB/OL]. [2023-09-21]. <https://www.doc88.com/p-23947600155905.html>.  
The Department of Health of the Hong Kong Special Administrative Region of the People's Republic of China. Hong Kong traditional Chinese medicine standards: phase 5[S/OL]. [2023-09-21]. <https://www.doc88.com/p-23947600155905.html>.
- [6] HAO J W, CHEN N D, LIU X Q, et al. Detection of the adulteration of *Dendrobium huoshanense* with *Dendrobium henanense* by UV-vis-shortwave near-infrared diffuse reflectance spectroscopy combined with chemometrics[J]. J AOAC Int, 2024, 107(1):158-163.

- [7] 蔡佳良,姬生国. 近红外光谱法快速鉴别市售不同厂家生产的藿胆丸[J]. 中国药房,2014,25(47):4458-4460.  
CAI J L,JI S G. Rapid identification of Huodan pills from different manufacturers by near-infrared spectroscopy[J]. China Pharm,2014,25(47):4458-4460.
- [8] 林萍,周文婷,王海霞,等. 高良姜中高良姜素含量NIRS分析模型的构建[J]. 计算机与应用化学,2014,31(5):632-636.  
LIN P,ZHOU W T,WANG H X, et al. A model for determination of galangin content in *Alpiniae Officinarum Rhizoma* by near-infrared reflectance spectroscopy[J]. Comput Appl Chem,2014,31(5):632-636.
- [9] 卢慧娟,贾灿潮,曹庆玺,等. 近红外光谱技术快速测定夏枯草中水溶性浸出物的含量[J]. 中国实验方剂学杂志,2016,22(2):43-46.  
LU H J,JIA C C,CAO Q X, et al. Content determination of water-soluble extract in *Prunellae Spica* by near-infrared spectroscopy[J]. Chin J Exp Tradit Med Formulae,2016,22(2):43-46.
- [10] 赖秀娣,贾灿潮,林晓菁,等. 利用NIRS技术快速测定制何首乌中游离蒽醌含量[J]. 药物分析杂志,2016,36(12):2215-2220.  
LAI X D,JIA C C,LIN X J, et al. Rapid content determination of free anthraquinones in *Polygoni Multiflori Radix Praeparata* by using NIRS[J]. Chin J Pharm Anal,2016,36(12):2215-2220.
- [11] GUO H J,WENG W F,ZHAO H N, et al. Application of Fourier transform near-infrared spectroscopy combined with GC in rapid and simultaneous determination of essential components in *Amomum villosum*[J]. Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc,2021,251:119426.
- [12] LI R,ZENG C B,LI J N, et al. Characterization of the fruits and seeds of *Alpinia oxyphylla* Miq by high-performance liquid chromatography (HPLC) and near-infrared spectroscopy (NIRS) with partial least-squares (PLS) regression[J]. Anal Lett,2020,53(11):1667-1682.
- [13] 赖秀娣,林晓菁,龚雪,等. 近红外光谱法快速测定穿心莲中穿心莲内酯的含量[J]. 中国医药工业杂志,2018,49(9):1300-1305.  
LAI X D,LIN X J,GONG X, et al. Rapid determination of andrographolide in *Andrographis paniculata* by near-infrared spectroscopy[J]. Chin J Pharm,2018,49(9):1300-1305.
- [14] LI J N,WEN J F,TANG G Q, et al. Development of a comprehensive quality control method for the quantitative analysis of volatiles and lignans in *Magnolia biondii* Pamp. by near-infrared spectroscopy[J]. Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc,2020,230:118080.
- [15] 袁洁,朱亚雯,屯妮萨古丽·艾买提江,等. 管花肉苁蓉饮片中主要苯乙醇苷近红外快检技术的建立及应用[J]. 分析试验室,2023,42(6):767-774.  
YUAN J,ZHU Y W,Tunnisaguli Aimaitijiang, et al. Establishment and application of near-infrared rapid detection technology for main phenylethanoid glycosides in *Cistanche tubolosa* decoction pieces[J]. Chin J Anal Lab,2023,42(6):767-774.
- [16] BARTWAL A,JOHN R,PADHI S R, et al. NIR spectra processing for developing efficient protein prediction model in mung bean[J]. J Food Compos Anal,2023,116:105087.
- [17] 耿晓桐,王丰青,苏秀红,等. 近红外光谱法快速测定怀地黄中总苯乙醇苷、总环烯醚萜苷的含量[J]. 中国药房,2019,30(2):225-231.  
GENG X T,WANG F Q,SU X H, et al. Rapid determination of total phenylethanoid glycosides and total iridoid glycosides in *Rehmannia glutinosa* by near-infrared spectroscopy[J]. China Pharm,2019,30(2):225-231.
- [18] 彭严芳,王君,吴志生,等. 丹参酮Ⅱ<sub>A</sub>和隐丹参酮近红外光谱的2D-COS解析及其在丹参酮提取物近红外模型中应用[J]. 光谱学与光谱分析,2022,42(6):1781-1785.  
PENG Y F,WANG J,WU Z S, et al. NIR band assignment of tanshinone II<sub>A</sub> and cryptotanshinone by 2D-COS technology and model application tanshinone extract[J]. Spectrosc Spectr Anal,2022,42(6):1781-1785.
- [19] 杨唯瀚,郝经文,黄和平,等. 近红外漫反射光谱法快速测定蕨菜多糖含量的研究[J]. 中国现代应用药学,2023,40(5):597-602.  
YANG W H,HAO J W,HUANG H P, et al. Rapid determination of polysaccharide in *Pteridium aquilinum* by near-infrared diffuse reflectance spectroscopy[J]. Chin J Mod Appl Pharm,2023,40(5):597-602.

(收稿日期:2023-11-01 修回日期:2024-03-26)

(编辑:胡晓霖)