

近红外光谱技术对小儿感冒颗粒半成品中连翘苷含量的检测研究

曹雅晴¹, 王 钧¹, 崔金秀², 骆 牛¹, 葛永英², 周 聪¹, 林江萍², 李页瑞¹

¹苏州泽达兴邦医药科技有限公司, 江苏 苏州

²华润三九(枣庄)医药科技有限公司, 山东 枣庄

收稿日期: 2021年12月24日; 录用日期: 2022年1月19日; 发布日期: 2022年1月26日

摘 要

目的: 建立近红外光谱法快速检测小儿感冒颗粒半成品中连翘苷含量的方法。方法: 利用近红外光谱仪对小儿感冒灵颗粒半成品样品进行扫描, 对其光谱进行预处理和波段选择, 并通过偏最小二乘法(partial least squares, PLS)建立连翘苷含量快速无损检测方法。结果: 所建立的模型的决定系数 R^2 为94.73, RMSEP为0.00247, 对验证集样品进行预测并统计分析, 预测值与真实值之间无显著差异($P > 0.05$)。结论: 所建立的模型准确度高, 适用于小儿感冒灵颗粒半成品中连翘苷含量的快速检测。

关键词

小儿感冒灵颗粒, 半成品, 连翘苷, 近红外光谱技术, 偏最小二乘法, 过程质量控制

Determination of Forsythin in Semi-Finished Products of Infantile Cold Granule by Near Infrared Spectroscopy

Yaqing Cao¹, Jun Wang¹, Jinxiu Cui², Niu Luo¹, Yongyin Ge², Cong Zhou¹, Jiangping Lin², Yerui Li¹

¹Suzhou Zeda Xingbang Pharmaceutical Technology Co., Ltd., Suzhou Jiangsu

²Huarun Sanjiu (Zaozhuang) Pharmaceutical Technology Co., Ltd., Zaozhuang Shandong

Received: Dec. 24th, 2021; accepted: Jan. 19th, 2022; published: Jan. 26th, 2022

Abstract

Objective: To establish a method for rapid determination of forsythin content in semi-finished

文章引用: 曹雅晴, 王钧, 崔金秀, 骆牛, 葛永英, 周聪, 林江萍, 李页瑞. 近红外光谱技术对小儿感冒颗粒半成品中连翘苷含量的检测研究[J]. 药物资讯, 2022, 11(1): 53-58. DOI: 10.12677/pi.2022.111007

products of infantile cold granule by near infrared spectroscopy. Methods: The semi-product sample of infantile cold granule was scanned by near-infrared spectrometer, and its spectrum was pre-processed and band selection was carried out. Combined with partial least squares (PLS), a rapid non-destructive testing method for the content of forsythin was established. **Results:** The determination coefficient R^2 of the established model was 94.73, and RMSEP was 0.00247. The validation set samples were predicted and statistically analyzed. There was no significant difference between the predicted value and the real value ($P > 0.05$). **Conclusion:** The established model has high accuracy and is suitable for rapid detection of phillyrin content in semi-finished products of infantile cold granule.

Keywords

Infantile Cold Granule, Semi-Finished Product, Forsythin, Near Infrared Spectroscopy, Partial Least Squares Method, Process Quality Control

Copyright © 2022 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

小儿机体因发育不成熟会经常感染病毒而患病，病毒性感冒最为常见，该病发病时身体体温会达到 $39^{\circ}\text{C}\sim 40^{\circ}\text{C}$ 甚至以上，其并发症较多[1]。小儿感冒灵是治愈此病症的一种药物，它的成分主要包括连翘、银花、板蓝根等物质，是在“银翘散”的基础上加减物质而得来，其中的银花连翘等物质具有清热解毒、辛凉解表等作用[2]，对于治疗小儿病毒性感冒和呼吸道感染能够起到退热快、疗效显著的作用[3] [4]。

连翘苷是小儿感冒灵颗粒半成品中的重要物质，其含量严重影响药物疗效，因此连翘苷含量是判断小儿感冒灵质量的重要指标。目前，近红外光谱技术被广泛应用到生产过程中的在线检测，能够做到对生产过程工艺参数的实时监测，近红外光谱技术因无样品预处理环节、快速检测、抗干扰能力强等优点被受到关注[5] [6] [7]，已逐渐应用到工业生产中。本文主要是以山东枣庄小儿感冒灵颗粒半成品为样品，采用近红外光谱仪对样品进行扫描采集光谱，将得到的光谱与对应的理化值建立相应的近红外定量检测模型，以提供一种快速检测小儿感冒灵颗粒中连翘苷含量的方法。

2. 实验部分

2.1. 仪器与试剂

小儿感冒灵颗粒半成品(华润三九(枣庄)药业有限公司);

Micro NIR 光谱仪(美国 VIAVI); 高效液相色谱仪(Agilent 1260); 超声波清洗仪(KQ-500DE); QUINTIX224-1CN 型电子天平(赛多利斯); XP56 型电子天平(梅特勒-托利多公司);

甲醇为分析纯; 水为超纯水; 乙腈为色谱纯。

2.2. 实验方法

小儿感冒灵颗粒半成品中连翘苷含量的测定是参照中国药典中规定的方法，方法为高效液相色谱法(通则 0512)。

对照品溶液的制备: 精确称量一定量的连翘苷对照品, 向其中加入甲醇溶解, 配置成每 1 mL 含 0.2 mg 连翘苷的溶液即可。

供试品溶液的制备：先将样品过筛(五号筛)后，精确称量 2 g 样品于锥形瓶中，加入 25 mL 甲醇，称定其重量并记录，在功率 250 W、频率 40 kHz 环境下超声处理 25 分钟，冷却后再次称量重量，减失的重量用甲醇补足，溶液过滤后再取 10 mL 于 25 mL 容量瓶中加水定容，摇匀后再过滤得到的溶液即为供试品溶液。

色谱条件：X Bridge Shield RP18 C18 (250 mm × 4.6 mm, 5 μm)；以乙腈 - 水(25:75)为流动相；检测波长为 277 nm。流速为 1 mL/min；柱温为 30℃；进样量为 10 μL。

样品测定：取对照品和供试品溶液各 10 μL，按照上述液相方法进样，根据药典规定，样品含量按干燥品计算，含连翘(C.H0.J]不得少于 0.15%。

2.3. 近红外漫反射光谱采集

小儿感冒灵颗粒半成品光谱采集预处理：取上述样品适量于扁形瓶中，将仪器放在样品上采集近红外漫反射光谱。光谱采集条件：扫描次数为 50 次，积分时间：8.9 ms。所得半成品原始光谱如图 1 所示。

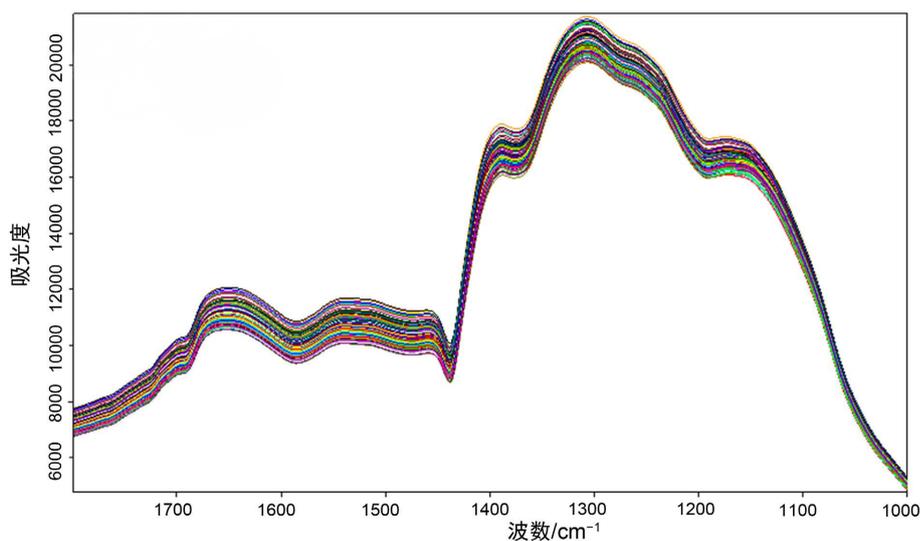


Figure 1. Near infrared original spectrum of semi-finished products of infantile cold granule
图 1. 小儿感冒灵颗粒半成品近红外原始光谱

2.4. 数据处理与模型性能评价

将上述实验中液相测得的小儿感冒灵颗粒半成品中连翘苷含量和对应的光谱进行数据处理分析，分析软件选择 Bruker 公司的 OPUS 软件。近红外光谱在建模分析之前，首先对判断并剔除校正集光谱中的异常，其次再对得到的光谱做预处理操作，预处理方式包括平滑、微分等，以上处理主要目的是为了消除仪器背景或漂移等其他因素对光谱信号的干扰，最后选择合适的波段与相应理化值建立近红外定量模型，此操作能够提高建模准确性。

近红外模型建立方法较多，本实验以其中的 NIR-PLS 方法建立小儿感冒灵颗粒半成品中连翘苷定量模型，模型的最适主因子数根据留一交互验证法中交互验证误差均方根(Root Mean Square Error of Cross Validation, RMSECV)选择。对建立的 PLS 连翘苷定量模型的评价，文中选取了相关系数 R^2 、模型的校正集预测误差均方根(RMSEC)、验证集相对偏差(RSEP)、验证集预测误差均方根(RMSEP)等作为考察指标，其中，相关系数 R^2 越接近 1、RMSEC 和 RMSEP 的值越接近、RSEP 越小，表明建立的连翘苷定量模型预测效果越好，模型性能越佳。

3. 结果与讨论

3.1. 小儿感冒灵颗粒半成品中连翘苷含量测定结果

按照 1.2 项下的方法测定小儿感冒灵颗粒半成品中连翘苷含量得出,连翘苷含量的范围在 0.079~0.125 mg/g 之间。

3.2. 光谱预处理

光谱在采集过程中会受到其他因素的影响,会降低光谱的稳定性和准确性,从而使得建立的模型预测能力降低,因此,在建模之前需对光谱进行预处理。光谱预处理方法主要包括平滑、矢量归一化(Standard Normal Variable, SNV)、一阶导数(First Derivative, 1st)、二阶导数(Second Derivative, 2nd)、多元散射校正(Multiplicative Scatter Correction, MSC)等[8],也可叠加使用预处理方法以求得到更好的光谱处理效果。本文应用 OPUS 软件对小儿感冒灵颗粒半成品中连翘苷光谱作了如下预处理操作,得到的结果如下表 1 所示。

Table 1. Effects of different pretreatment methods on forsythin content in semi-finished products of infantile cold granule
表 1. 不同预处理方法对小儿感冒灵颗粒半成品中连翘苷含量的影响

| 预处理方法 | 建模波段/cm ⁻¹ | R ² | RMSEP | RPD | Factor |
|------------|---------------------------------------|----------------|---------|------|--------|
| 一阶导数 + MSC | 1799~1479, 1400~1319, 1240~1000 | 0.9473 | 0.00247 | 4.37 | 10 |
| 一阶导数 | 1799~1719, 1480~1399, 1080~1000 | 0.9215 | 0.0028 | 3.57 | 8 |
| 减去一条直线 | 1799~1319, 1273~1000 | 0.8033 | 0.00443 | 2.29 | 4 |
| 多元散射校正 | 1799~1399 | 0.8607 | 0.00331 | 2.68 | 7 |

通过比较发现,小儿感冒灵颗粒半成品连翘苷光谱在 1799~1479、1400~1319、1240~1000 cm⁻¹ 的波段范围内,通过一阶导数 + MSC 进行处理后,得到的模型效果最好,其对应的 RMSEP 值较低,RPD 值较高,R² 值偏高且与 1 更接近,预处理效果最优。

3.3. 定量模型的建立

本文使用的 OPUS 软件能够对光谱进行自动优化,软件经过对光谱筛选和剔除异常点后,选择最优预处理方法和建模波段,最终得到较优的小儿感冒灵颗粒半成品中连翘苷含量的模型,用 PLS 法建立小儿感冒灵颗粒半成品中连翘苷的近红外定量校正模型。获得小儿感冒灵颗粒半成品中连翘苷含量的 NIR 预测值和其液相测得的理化值之间的差异关系如图 2 所示,建立的模型参数如表 2 所示。

从表 2 中可以看出,应用偏最小二乘法建立的最优连翘苷含量近红外定量模型,其优化后的模型波段为 1799~1479、1400~1319、1240~1000 cm⁻¹,预处理方法为一阶导数 + MSC, NIR 模型的 R² 为 0.9473, RPD 为 4.37, RMSEP 为 0.00247,模型指标均在规范范围内,可见小儿感冒灵颗粒半成品连翘苷含量的 NIR 建模效果良好。

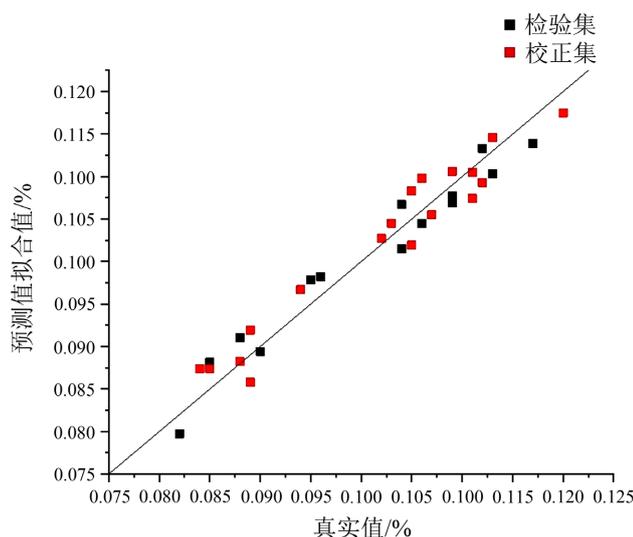


Figure 2. Correlation diagram of measured value and NIR predicted value of phillyrin content in semi-finished product of infantile cold granule

图 2. 小儿感冒灵颗粒半成品连翘苷含量实测值和 NIR 预测值相关性图

Table 2. Summary of model parameters of forsythin content in semi-finished products of infantile cold granule

表 2. 小儿感冒灵颗粒半成品中连翘苷含量模型参数汇总

| 指标 | 建模波段/cm ⁻¹ | R ² | RMSEP | RPD | Factor | 预处理方法 |
|-----|---------------------------------------|----------------|---------|------|--------|------------|
| 连翘苷 | 1799~1479, 1400~1319, 1240~1000 | 0.9473 | 0.00247 | 4.37 | 10 | 一阶导数 + MSC |

3.4. 定量模型的验证

下图为建立的模型对其他样本的预测值与真实值的差异结果，小儿感冒灵颗粒半成品连翘苷含量的 NIR 预测值和实测值的关系如图 3 所示，反应模型预测指标参数如表 3 所示。

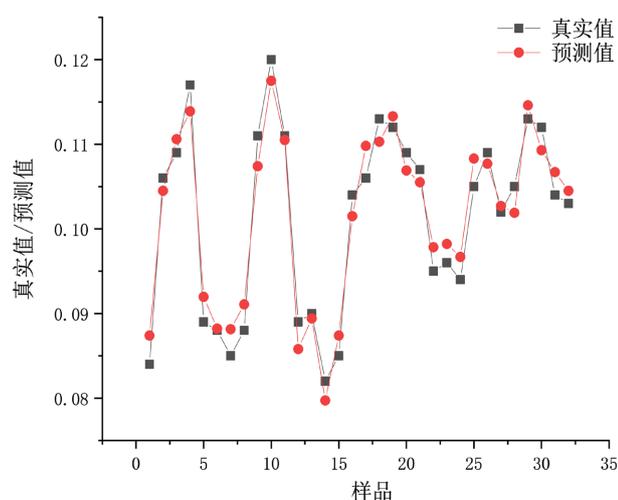


Figure 3. Comparison of measured values and NIR predicted values of phillyrin content in semi-finished products of infantile cold granule

图 3. 小儿感冒灵颗粒半成品连翘苷含量实测值和 NIR 预测值比较

Table 3. Predictive effect parameter table of forsythin content model in semi-finished products of infantile cold granule
表 3. 小儿感冒灵颗粒半成品中连翘苷含量模型的预测效果参数表

| 模型 | RMSEP | RSEP(%) |
|-----|---------|---------|
| 连翘苷 | 0.00247 | 2.41 |

从图 3 中可以看出, 实验建立的小儿感冒灵颗粒半成品连翘苷 NIR 定量模型预测效果较好, 模型的预测值与液相实际测得的小儿感冒灵颗粒半成品连翘苷含量差异较小。表 3 结果得出, 小儿感冒灵颗粒半成品中连翘苷含量模型的 RMSEP 值为 0.00247, RSEP(%) 值为 2.41, 说明近红外光谱分析方法基本可以较好地预测小儿感冒灵颗粒半成品中连翘苷的含量。

4. 结论

本研究建立了小儿感冒灵颗粒半成品中连翘苷含量的近红外快速分析方法, 所用的连翘苷指标的数由苏州泽达兴邦医药科技有限公司实验室测定。研究表明采用 MSC 结合一阶导数对光谱数据进行预处理, 再采用偏最小二乘算法建立的连翘苷定量分析模型具有较好的预测效果, 模型的 R^2 、RMSEP 和 RSEP 分别达到了 0.9473, 0.00247 和 2.41%, 模型的预测结果可以满足近红外快速分析的要求。采用本研究中建立的近红外定量分析模型, 可快速无损地测定小儿感冒灵颗粒半成品中的连翘苷含量, 与传统含量测定方法如液相和紫外方法等相对比结果差异不大, 但更节约时间人力物力, 这也说明在中药生产过程中, 近红外快速分析方法具有很好的应用前景。

参考文献

- [1] 蔡东升. 小儿感冒灵治疗小儿病毒性感冒 60 例临床观察[J]. 公共卫生与预防医学, 2006(1): 27.
- [2] 黄晓鸣. 复感灵汤治疗病毒性感冒体会[J]. 浙江中西医结合杂志, 2000, 10(2): 84.
- [3] 李太生. 病毒性感冒从湿论治探析[J]. 实用中医内科杂志, 2008, 22(8): 18.
- [4] 方文献. 白虎汤加味治疗病毒性感冒高热[J]. 浙江中医杂志, 2010, 45(8): 549.
- [5] 徐广通, 袁洪福, 陆婉珍. 近红外光谱仪器概况与进展[J]. 现代科学仪器, 1997(3): 9-11.
- [6] 胡钢亮. 近红外光谱技术在中药领域中的应用研究[D]: [硕士学位论文]. 杭州: 浙江大学, 2003.
- [7] 刘沐华, 张学工, 周群, 等. 近红外漫反射光谱法和模式识别技术鉴别中药材产地[J]. 光谱学与光谱分析, 2006, 26(4): 629-632.
- [8] 王涛, 白铁成, 朱彩蝶, 等. 基于近红外光谱多种预处理的胡杨叶片含水量预测对比[J]. 西北林学院学报, 2020, 35(5): 173-179.