

doi:10.3969/j.issn.1006-4931.2022.16.016

近红外漫反射光谱法快速鉴别养胃颗粒*

陈 晴, 杨 阳, 赵娜娜, 葛 媛, 张兰萍, 毕 云, 朱 斌[△]

(徐州医科大学附属淮海医院·中国人民解放军陆军第七十一集团军医院药剂科, 江苏 徐州 221004)

摘要:目的 建立快速鉴别养胃颗粒真伪的近红外漫反射光谱(NIRDRS)法。方法 扫描范围为近红外全谱区(12 000~4 000 cm^{-1}), 扫描次数为64次, 分辨率为8 cm^{-1} , 以仪器内置背景为参比, 采集23批养胃颗粒正品及2批伪品的光谱图。建立一致性检验模型, 设定一致性指数(CI)值限度为5.00; 建立相关系数模型, 设定相关系数阈值为0.95, 并验证模型准确性。结果 一致性检验模型显示, 正品CI值均小于5.00, 伪品CI值均大于5.00; 相关系数模型显示, 正品间的相关系数均大于0.95, 正品与伪品间的相关系数均小于0.95。结论 NIRDRS法结合一致性检验模型、相关系数模型能快速准确地鉴别养胃颗粒的真伪。

关键词:近红外漫反射光谱法; 养胃颗粒; 快速鉴别; 一致性检验模型; 相关系数模型

中图分类号: R913; R927

文献标志码: A

文章编号: 1006-4931(2022)16-0065-04

Rapid Identification of Yangwei Granules by Near-Infrared Diffuse Reflectance Spectroscopy

CHEN Qing, YANG Yang, ZHAO Nana, GE Yuan, ZHANG Lanping, BI Yun, ZHU Bin

(Department of Pharmacy, The Affiliated Huaihai Hospital of Xuzhou Medical University · The 71st Group Army Hospital of the PLA, Xuzhou, Jiangsu, China 221004)

Abstract: Objective To establish a near-infrared diffuse reflectance spectroscopy (NIRDRS) method for rapid identification of Yangwei Granules. **Methods** The scanning range was near-infrared full spectrum (12 000–4 000 cm^{-1}), the scanning times were 64 times, and the resolution was 8 cm^{-1} . The built-in background of the instrument was taken as a reference to collect the spectra of 23 batches of genuine Yangwei Granules and 2 batches of fake ones. The conformity test model was established and the limit of the consistency index (CI) was set at 5.00. The correlation coefficient model was established and the threshold value was set at 0.95. The accuracy of the two models was verified. **Results** The conformity test model showed that the CI value of genuine products was lower than 5.00, while that of fake products was higher than 5.00. The correlation coefficient model showed that the correlation coefficient among genuine products was higher than 0.95, while that between genuine and fake products was lower than 0.95. **Conclusion** NIRDRS method combined with the conformity test model and correlation coefficient model can quickly and accurately identify the authenticity of Yangwei Granules.

Key words: near-infrared diffuse reflectance spectroscopy; Yangwei Granules; rapid identification; conformity test model; correlation coefficient model

近红外漫反射光谱(NIRDRS)法是将光谱测量技术、计算机技术、化学计量学技术和基础测试技术有机结合的分析方法^[1], 可依据不同化学结构药品的近红外吸收光谱特征不同, 通过比较待测样品光谱与参照光谱的差异进行鉴别。检测时, 样品基本无须预处理, 且不破坏样品、不消耗化学试剂、不造成环境污染, 具有分析快速准确、操作简单、成本低廉, 固液气样品均适用, 以及可同时分析多种化学成分等优点, 被美国药典、欧洲药典、英国药典及中国药典等收录^[2-3]。目前,

NIRDRS法已广泛应用于食品成分和质量控制^[4]、农作物谷物质量评价^[5]、现场快速检测和鉴别假药^[6]、制剂定性定量分析^[7]及中药鉴定和含量测定^[8-9]等分析技术领域, 可提高药品筛查效率和抽样针对性^[10-11]。养胃颗粒由黄芪、延胡索、白芍、威灵仙、海螵蛸、甘草等10味中药组方, 有温中散寒、理气止痛功效^[12], 可抗胃溃疡及镇痛^[13-14]。为进一步拓展其质量控制方法, 本研究中建立了快速、准确鉴别养胃颗粒的NIRDRS法。现报道如下。

* 基金项目: 全国军医药卫生科研基金[11M039]; 中国人民解放军陆军第七十一集团军医院内科科研基金[YN2011004; YN2011005]。

第一作者: 陈晴, 女, 大学本科, 主管药师, 研究方向为药物制剂及药物分析学, (电话)0516-67349244(电子信箱)chenqing198901@126.com。

[△]通信作者: 朱斌, 男, 硕士, 副主任药师, 研究方向为医院药学及药物分析学, (电话)0516-67349241(电子信箱)44862488@qq.com。

1 仪器与药品

1.1 仪器

Vector 22 / N型傅里叶变换近红外光谱仪,配有光纤探头和漫反射积分球(光谱范围13 330~4 000 cm^{-1} 、波数精度0.01 cm^{-1}),购自德国Bruker公司。

1.2 药品

养胃颗粒正品23批(由本院药剂科制剂室提供,规格为15 g/袋),编号(#01至#23)与批号见表1。另取缺黄芪及海螵蛸的养胃颗粒伪品2批(编号分别为#24、#25)。

表1 养胃颗粒正品样品编号与批号

Tab.1 Number and batch number of genuine Yangwei Granules samples

编号	批号	编号	批号	编号	批号
#01	111018	#09	120606	#17	121204
#02	111109	#10	120703	#18	121228
#03	111206	#11	120731	#19	130117
#04	120110	#12	120822	#20	130205
#05	120209	#13	120918	#21	130228
#06	120307	#14	121010	#22	130315
#07	120411	#15	121031	#23	130405
#08	120515	#16	121116		

2 方法与结果

2.1 试验条件

扫描范围为近红外光谱区(12 000~4 000 cm^{-1});扫描次数为64次;分辨率为8 cm^{-1} ,以仪器内置背景为参比。进行21点平滑滤波预处理,平行测定5次。

2.2 光谱采集

取各批次样品粉末(过80目筛)适量,直接装入测量用西林瓶中(覆盖瓶底厚度约1 cm)。按2.1项下试验条件采集光谱,用光纤探头轻抵西林瓶瓶底,随机在瓶底不同部位重复测定5次。光谱见图1。

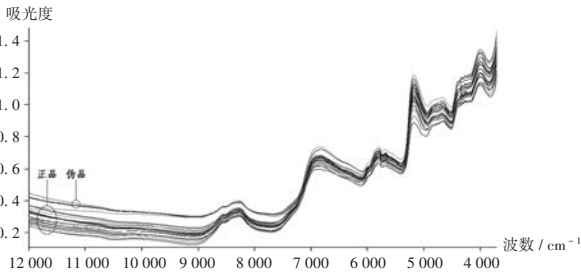


图1 各批次养胃颗粒样品近红外漫反射光谱图

Fig.1 NIRDRS spectra of different batches of Yangwei Granules samples

2.3 一致性检验模型试验

2.3.1 建立方法

建模样品训练集选择:采用23批正品样品的平均

光谱作为建模样品训练集,建立一致性检验模型。

建模谱段和预处理方法:选择特征谱段8 545~3 727.7 cm^{-1} ;预处理方法为一阶导数结合矢量归一化(导数化可消除基线漂移等因素带来的影响,矢量归一化可消除光程或样品厚度带来的影响^[15-16]);设定平滑点数21个,进行平滑预处理;设定一致性指数(CI)值限度为5.00。

检验集选择:选择全部样品的平均光谱作为检验集。

2.3.2 模型建立与检验

根据2.3.1项下建模条件,建立养胃颗粒的一致性检验模型,详见图2。一致性检验模型对正品及伪品样品的检测结果见图3。可见,参与建模的#23样品的NIR-DRS处于CI区间范围内,而#24、#25样品的CI值分别为-12.26,9.81,其结果溢出近红外光谱所在区间。由此说明,#24、#25样品与正品样品主成分有显著差异,可判定#24、#25样品为假药或劣药。

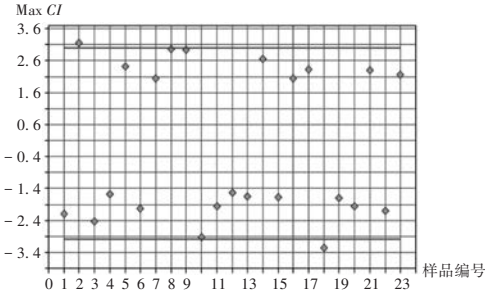
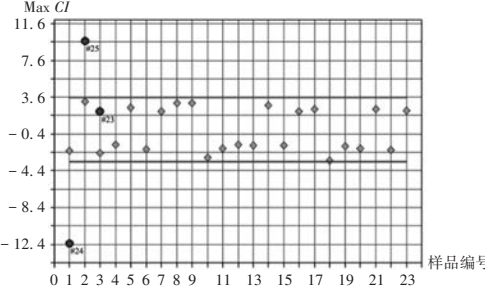


图2 养胃颗粒的一致性检验模型

Fig.2 The conformity test model of Yangwei Granules



注:◆为训练集样品,●为检验集样品。

图3 养胃颗粒正品及伪品的一致性检验模型检测结果

Note:◆refers to the training set samples,and ●refers to the test set samples.

Fig.3 Test results of genuine Yangwei Granules and fake ones by the conformity test model

2.4 相关系数模型试验

2.4.1 建立方法

建模样品训练集选择:同2.3.1项下方法建立相关系数模型。

建模谱段和预处理方法:选择谱段12 000~4 000 cm^{-1} ;

表2 养胃颗粒部分正品和伪品样品之间的相关系数

Tab. 2 Correlation coefficient between partial genuine samples Granules and fake ones					
编号	#01	#10	#20	#24	#25
#01	1.000 0	0.998 5	0.998 4	0.897 5	0.898 9
#03	0.999 0	0.999 3	0.998 8	0.897 6	0.895 5
#05	0.998 9	0.998 8	0.998 9	0.917 3	0.916 9
#07	0.999 2	0.999 3	0.998 7	0.909 8	0.905 9
#09	0.997 9	0.998 4	0.998 7	0.906 7	0.907 8
#10	0.998 3	1.000 0	0.998 4	0.913 5	0.916 3
#12	0.997 9	0.998 3	0.998 5	0.899 7	0.898 9
#14	0.998 4	0.998 7	0.998 7	0.899 6	0.902 3
#16	0.998 3	0.999 6	0.998 5	0.901 2	0.902 6
#18	0.998 6	0.998 2	0.998 3	0.913 5	0.909 8
#20	0.997 6	0.998 5	1.000 0	0.906 7	0.904 6
#22	0.998 2	0.997 9	0.997 6	0.899 5	0.903 1
#24	0.910 7	0.913 5	0.920 3	1.000 0	0.978 6
#25	0.912 3	0.908 5	0.909 7	0.977 9	1.000 0

设定相关系数阈值为0.95;余同2.3.1项。

检验集选择:选择部分正品样品(编号见表2)及伪品样品(#24、#25)的平均光谱作为检验集。

2.4.2 模型建立与检验

根据2.4.1项下建模条件,建立养胃颗粒的相关系数模型并进行检验。检验集样品相互之间的相关系数见表2。#01和#24样品的检测结果见图4。可见,样品之间的相关系数,正品间均大于0.95,正品和伪品间均小于0.95,表明正品与伪品的相关系数限度设置为0.95可行。

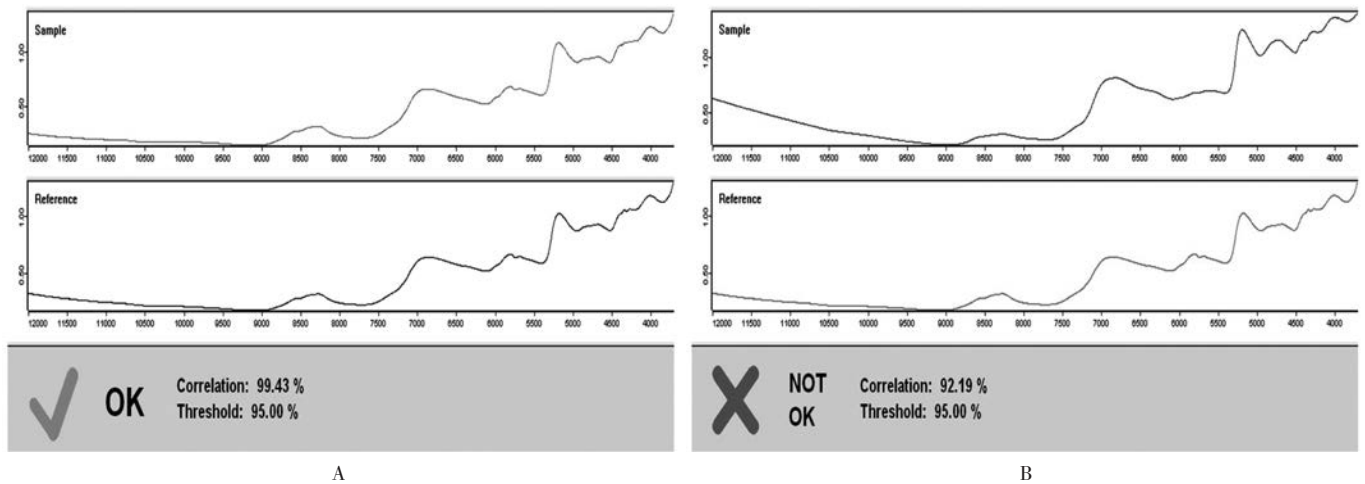
3 讨论

近红外光谱分析方法属弱信号分析范畴,在快速

鉴别中药、中成药真伪方面具有明显优势^[17]。任何药品成分或辅料发生改变,均能在NIRDRS中体现^[18]。本研究中有针对性地选择并制备了处方缺黄芪、缺海螵蛸的养胃颗粒伪品样品,黄芪、海螵蛸均为方中君药,且海螵蛸处方用量最大,黄芪处方用量次之,故使用缺黄芪、缺海螵蛸处方进行伪品验证具有一定的代表性和实用性。

一致性检验为简单便捷的谱图比较方法,通过设定合理的CI值限度建立一个吸光度值合理波动的置信区间,再通过比较谱图中每个波长点处的吸光度值,判断图谱一致性^[19]。CI值限度应根据药品质量标准进行设定,并通过严格的试验条件研究药品质量变化与CI值变化的关系^[20]。若待测样品每一波长处的吸光度均位于该区间内,表现为待测光谱的CI值小于设定的CI值限度,即待测样品光谱与参考样品光谱具有一致性,则待测样品通过一致性检验,可判定待测样品与参考样品之间无差异。建立NIRDRS一致性检验模型,能对测试集样品作出准确无误的判别分类^[21]。建立一致性检验模型时,注意训练集样品数量应多于20个批次,以保证模型稳定,能更加全面、客观地反映样品的实际情况,降低误判率。本研究中采用了23个批次的正品样品作为训练集样品建立一致性检验模型,结果模型中最大CI值约为3.00,低于设定的CI值限度5.00,表明采用的正品一致性较好,各批次间差异较小,其制剂工艺固定,制剂生产较规范。经检测,养胃颗粒伪品与正品可明显识别区分,且通过模型判断正伪品准确无误。

相关系数法是一种简单易行的质量判别方法^[22],其通过在选定的谱段范围内比较待测样品光谱与参考样品光谱,得到相关系数(相似度越高,其值越接近1),



A. #01 样品 B. #24 样品
图4 养胃颗粒的近红外漫反射光谱相关性图谱
A. #01 sample B. #24 sample

Fig. 4 The correlation NIRDRS spectra of Yangwei Granules

以判断待测样品与参考样品在某种性质上是否一致^[23]。如果测定的相关系数值大于设定的阈值,即待测样品通过相关系数检测,可判定待测样品与参考样品之间无差异。相关系数法对光谱数量不作要求,建立相关系数模型时,应充分利用近红外光谱的指纹特性,有针对性地选择对活性化学成分或辅料变化高度敏感的光谱区域,计算相关系数并比较相似程度。本研究中伪品与正品样品的相对系数均约为0.90,但考虑到模型传递、操作者、测定仪器及测定环境等易产生误差,加之样品为复方中药制剂,中药材成分复杂且来源质量可能存在批次差异,均会影响模型的稳定性,故略提高阈值,设定为0.95。结果显示,该模型方法简单易行,阈值合理,能较好地地区分养胃颗粒正品及伪品。

关于两种模型的异同点,采用一致性检验模型、相关系数模型进行分析,均无须花费大量时间收集大量代表性样品的训练集构建定性定量模型,仅需建立一定数量的特定参考光谱并设定合理的阈值,通过比较指纹图谱之间的差异,实现真伪药品的快速鉴别。两种分析模型在药品真伪判别上具有高度的一致性,其鉴别能力相似。若建模样品具有一定的差异性和不确定性,应多采集代表性光谱,使用一致性检验模型;若建模样品内部差异较小,则可采集少量代表性光谱,使用相关系数模型。

本研究中纳入养胃颗粒正品样品23个、伪品样品2个,数量较少,可能导致模型代表性不佳,下一步需继续收集更多批次的养胃颗粒正品,加大样本量,进一步优化更新模型。此外,在后续工作中,还要验证缺其他单味中药、或缺多味中药(除黄芪、海螵蛸)等多样化的伪品光谱,以进一步确证本法的适用性,确保所建模型足够稳定、精准。

综上所述,本研究中采用NIRDRS法结合一致性检验模型、相关系数模型对中药复方制剂养胃颗粒进行定性质量控制,其操作可行、方法可靠,能快速、准确地鉴别养胃颗粒的真伪。

参考文献

- [1] 张卉,宋妍,冷静,等. 近红外光谱分析技术[J]. 光谱实验室,2007,24(3):388-395.
- [2] FENG YC, ZHANG XB, HU CQ. Construction of identification system for non-invasive analysis of macrolides tablets using near infrared diffuse reflectance spectroscopy [J]. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 2010, 51(1): 12-17.
- [3] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(四部)[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2020: 486-488.
- [4] 秦华俊, 刘波平, 罗香, 等. 近红外光谱技术在食品成分及质量控制方面的研究应用进展[J]. 现代测量与实验室管理, 2007, 15(1): 23-26.
- [5] FERREIRA DS, PALLONE JAL, POPPI RJ. Direct analysis of the main chemical constituents in Chenopodium quinoa grain using Fourier transform near-infrared spectroscopy [J]. Food Control, 2015, 48: 91-95.
- [6] 李盈, 杨小川, 汪洋. 药品快检车近红外系统快速鉴别硝酸咪康唑乳膏的真伪[J]. 中国药业, 2013, 22(4): 36-37.
- [7] 吴群. 吡啶美辛肠溶片近红外快速定量方法的建立[J]. 中国药业, 2016, 25(10): 66-68.
- [8] 史大军, 潘龙珍. 中成药胶囊剂假药近红外识别模型的研究[J]. 中国药业, 2014, 23(3): 28-29.
- [9] 战皓, 柳梦婷, 方婧, 等. 近红外分析技术在中药鉴定和含量测定中的应用研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志, 2015, 21(12): 231-234.
- [10] YAN J, HUANG XP, WU YY, et al. Determination of total sugar content in Siraitia grosvenorii by near infrared diffuse reflectance spectroscopy with wavelength selection techniques [J]. Journal of Food Measurement and Characterization, 2019, 13: 2713-2721.
- [11] 黄宗雯, 余俊, 项中华. 近红外光谱一致性检验方法快速鉴别江中健胃消食片的真伪[J]. 中国药事, 2012, 26(3): 279-281.
- [12] 朱斌, 钱洋洋, 杨洁, 等. 养胃颗粒治疗脾胃虚寒型慢性胃炎的临床疗效观察[J]. 西北国防医学杂志, 2021, 42(5): 360-365.
- [13] 都兴东. 养胃颗粒对胃溃疡模型鼠的治疗作用研究[J]. 医药导报, 2006, 25(11): 1125-1126.
- [14] 朱斌, 李娜, 陈晴, 等. 养胃颗粒对实验性胃溃疡的治疗作用研究[J]. 药事实践杂志, 2018, 36(5): 438-442.
- [15] 王跃卿, 杨威. 利用近红外(NIR)一致性检验模型及图谱比对法初筛复方氨酚烷胺片假药的情况分析[J]. 中国医药导报, 2010, 7(13): 56-57.
- [16] 叶杰胜. 运用近红外漫反射光谱法对别嘌醇片进行一致性检验的研究[J]. 中国药业, 2011, 20(19): 27-28.
- [17] 胡昌勤, 冯艳春. 近红外光谱假药识别系统的设想及可行性探讨[J]. 中国药事, 2004, 18(4): 250-252.
- [18] 王良金, 李松宾, 孟建生, 等. 近红外图谱直观分析法鉴别假药[J]. 中国药事, 2008, 22(8): 668-671.
- [19] 张学博, 尹利辉. 近红外光谱一致性检验方法用于快速判断药品质量的研究[J]. 药物分析杂志, 2011, 31(3): 603-608.
- [20] 韩吴琦, 黄永丽, 刘双平, 等. 建立快速准确筛查假劣药品的近红外一致性检验方法[J]. 中国药业, 2011, 20(18): 33-35.
- [21] 相茂花, 相茂功. 运用近红外光谱法对青霉素V钾片一致性检验的研究[J]. 临床医药文献杂志, 2017, 4(32): 6155.
- [22] 周景岳, 尹利辉, 张学博, 等. 近红外光谱快速鉴别抗艾滋病药物[J]. 药物分析杂志, 2012, 32(4): 709-712.
- [23] 韩吴琦, 吕晋, 黄永丽. 建立近红外相关系数法模型快速准确筛查假劣药品[J]. 中国药事, 2019, 33(7): 809-812.

(收稿日期: 2021-12-15; 修回日期: 2022-02-06)