



团 体 标 准

T/SDTCMA XXXX—2025

# 中药黄柏中盐酸小檗碱含量的测定：三维荧光法

Determination of Berberine Hydrochloride in the Chinese Herb Phellodendron chinense by Three-Dimensional Fluorescence Spectroscopy

(征求意见稿)

2025 - XX - XX 发布

2025 - XX - XX 实施

山东省中藥協會 布

# 目 次

前言 .....	II
1 范围 .....	1
2 规范性引用文件 .....	1
3 术语和定义 .....	1
4 技术原理 .....	1
5 试剂与材料 .....	2
6 仪器设备 .....	2
7 分析步骤 .....	2
7.1 标准溶液配制 .....	2
7.2 样品前处理 .....	2
7.3 三维荧光光谱 .....	2
7.4 高效液相色谱法 .....	2
8 定量分析 .....	2
8.1 光谱预处理 .....	2
8.2 异常样本剔除 .....	2
8.3 随机森林建模 .....	2
8.4 模型评价 .....	2
9 结果判定 .....	3
9.1 含量测定 .....	3
9.2 结果报告 .....	3
9.3 判定标准 .....	3
10 操作规范 .....	3
10.1 仪器操作 .....	3
10.2 样品操作 .....	3
11 注意事项 .....	3
附录 A (资料性) .....	4
附录 B (资料性) .....	5
附录 C (资料性) .....	6
附录 D (资料性) .....	7
附录 E (资料性) .....	8

## 前 言

本文件按照GB/T 1.1—2020《标准化工作导则 第1部分：标准化文件的结构和起草规则》的规定起草。

请注意本文件的某些内容可能涉及专利，本文件的发布机构不承担识别专利的责任。

本文件由山东省食品药品检验研究院提出。

本文件由山东省中药协会归口。

本标准起草单位：山东省食品药品检验研究院、中国食品药品检定研究院、山东一方制药有限公司、山东博康中药有限公司、山东百味堂中药饮片有限公司。

本标准主要起草人：林永强、徐兴燕、孙莹、汪冰、解盈盈、刘洪超、周广涛、崔伟亮、于雅萌、杨纯国、王建刚、崔彦伟、管昌美、曹沅、李凤双、谭永娥。

# 中药黄柏中盐酸小檗碱含量的测定：三维荧光法

## 1 范围

本文件规定了采用三维荧光光谱法快速测定黄柏中盐酸小檗碱含量的方法原理、仪器设备、试剂材料、分析步骤、结果计算。

本文件适用于中药材黄柏、饮片及提取物中盐酸小檗碱的快速定量分析。

## 2 规范性引用文件

下列文件中的内容通过文中的规范性引用而构成本文件必不可少的条款。其中，注日期的引用文件，仅该日期对应的版本适用于本文件；不注日期的引用文件，其最新版本（包括所有的修改单）适用于本文件。

《中华人民共和国药典》2020年版 四部

通则2321 药材和饮片检定通则

GB/T 14666-2003 《分析化学术语》

GB/T 603-2002 《化学试剂试验方法中所用制剂及制品的制备》

## 3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

### 3.1

#### 黄柏

芸香科植物黄皮树 *Phellodendron chinense* Schneid. 的干燥树皮。习称“川黄柏”。剥取树皮后，除去粗皮，晒干。

### 3.2

#### 三维荧光光谱 three-dimensional fluorescence spectroscopy

三维荧光光谱是通过同时测量样品在不同激发波长下的荧光发射光谱，进而获得一个包含激发波长、发射波长和荧光强度信息的三维数据矩阵。该矩阵能全面、直观地反映样品的荧光特性，为物质分析提供丰富的数据支持。

### 3.3

#### 交替三线性分解算法 ATLD

一种在多线性代数和张量分解领域中，用于对三维张量（三阶张量）进行分解的迭代优化算法。它的目标是将一个三维张量分解为多个秩一张量的和，从而揭示数据潜在的低维结构。

### 3.4

#### 特征峰强度 eigenpeak intensity

将三维荧光数据矩阵通过张量分解（如 ATLD）解析为多个独立荧光组分后，在代表某个特定组分的激发或发射光谱曲线上，对应于其特征波长位置的强度值。

### 3.5

#### 随机森林 Random Forest

一种基于集成学习思想的监督式机器学习算法。它通过构建并结合多个决策树来提升预测的准确性和稳定性，有效克服了单个决策树容易过拟合的缺点。

## 4 技术原理

物质分子吸收光能后，会从基态跃迁至激发态。处于激发态的分子稳定性较差，在返回基态的过程中会发射出荧光。不同物质由于其分子结构具有特异性，因而具备不同的荧光激发与发射特性。黄柏提

取液中的盐酸小檗碱在特定的激发波长条件下会产生特征性的荧光发射。借助三维荧光光谱技术可获取相应的光谱数据，结合随机森林模型，实现对黄柏中盐酸小檗碱含量的测定。

## 5 试剂与材料

盐酸小檗碱（中国药品食品检定研究院）； $\beta$ -环糊精（分析纯）；黄柏；甲醇（色谱纯）；二次去离子水；比色皿。

## 6 仪器设备

荧光分光光度计 F-7000（Hitachi）；高效液相色谱；分析天平；粉碎机。

## 7 分析步骤

### 7.1 标准溶液配制

盐酸小檗碱标准溶液：称取一定量的盐酸小檗碱标准品，置于100 mL容量瓶中，以甲醇溶解并定容，制得盐酸小檗碱储备液，使用时按需稀释。

### 7.2 样品前处理

黄柏提取液：称取0.0250g黄柏固体粉末（过3号筛）于25ml容量瓶中，用甲醇定容，超声30min，滤过，制得1mg/ml。

### 7.3 三维荧光光谱

设置荧光分光光度计的参数：激发波长范围为250–500nm；发射波长范围为400–600nm；扫描速度设定为12000nm/min；狭缝宽度设置为5nm。按照上述参数，对标准溶液和样品提取液依次进行三维荧光扫描，记录扫描数据。

### 7.4 高效液相色谱法

按照《中华人民共和国药典》2020年版四部中黄柏的盐酸小檗碱含量测定方法，利用高效液相色谱仪测定所有样品的含量，作为模型构建的参考值。色谱条件：以十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂；以乙腈-0.1%磷酸溶液（50：50）（每100ml加十二烷基磺酸钠0.1g）为流动相；检测波长为265nm。

## 8 定量分析

### 8.1 光谱预处理

空白扣除：利用Modelab软件，将样品光谱数据减去空白溶剂光谱，消除背景干扰。

散射校正：采用三次Spline样条插值法扣除瑞利散射和拉曼散射区域的信号。

组分解析：采用ATLD算法预处理后的三维数据进行张量分解，解析出盐酸小檗碱的EX/EM光谱和相对浓度曲线。

### 8.2 异常样本剔除

基于主成分分析（PCA），借助 Hotelling's  $T^2$  统计量衡量样本对主成分空间整体分布的偏离度，依据其统计显著性判定异常样本并予以剔除，以优化数据结构、提升后续分析可靠性。

### 8.3 随机森林建模

利用解析后的三维荧光光谱数据和对应的盐酸小檗碱浓度，构建随机森林模型。将数据集分为训练集（80%）和测试集（20%）。

### 8.4 模型评价

决定系数（ $R^2$ ）：评价模型拟合优度的指标， $R^2$  越接近1，表示模型拟合效果越好；

均方根误差（RMSE）：评价模型预测精度的指标，RMSE越小，表示模型预测值与实际值之间的差异越小。

## 9 结果判定

### 9.1 含量测定

通过随机森林模型预测样品提取液中盐酸小檗碱的浓度，再根据样品的称取量和定容体积，计算出黄柏样品中盐酸小檗碱的含量。

### 9.2 结果报告

报告需包含黄柏样品的编号及含量、试样的制备方法、仪器型号、随机森林模型参数及评价结果（ $R^2$ 、RMSE）等。

### 9.3 判定标准

当测定结果符合《中国药典》中规定黄柏中盐酸小檗碱的标准时（ $\geq 3.0\%$ ），判定该样品合格；否则判定为不合格。

## 10 操作规范

### 10.1 仪器操作

在使用三维荧光仪器前，应检查仪器的工作状态，开机预热30分钟后开始运行，确保仪器正常运行。按照仪器规范操作规程进行图谱采集和数据处理，避免误操作导致数据不准确或仪器损坏。定期对仪器进行校准和维护，确保仪器的性能稳定可靠。

### 10.2 样品操作

样品的采集、制备和保存应严格按照规定的方法进行，确保样品的质量。在样品测定过程中，应避免样品受到污染或发生物理学变化，影响测定结果的准确性。

## 11 注意事项

环境条件测定过程应在温度 $25 \pm 5^\circ\text{C}$ 、相对湿度30%~60%的环境下进行，避免环境温度和湿度的剧烈变化影响仪器性能和测定结果。

附录 A  
(资料性)

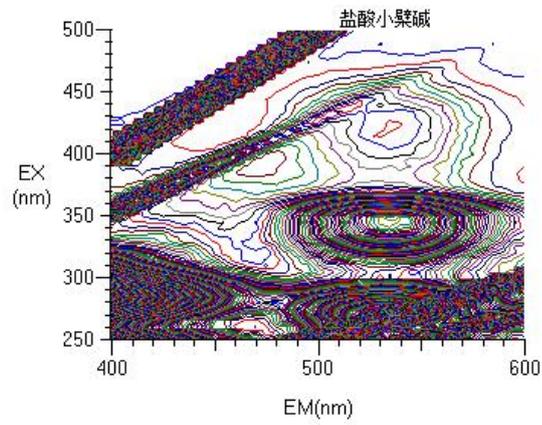


图 A.1 盐酸小檗碱的三维荧光光谱图

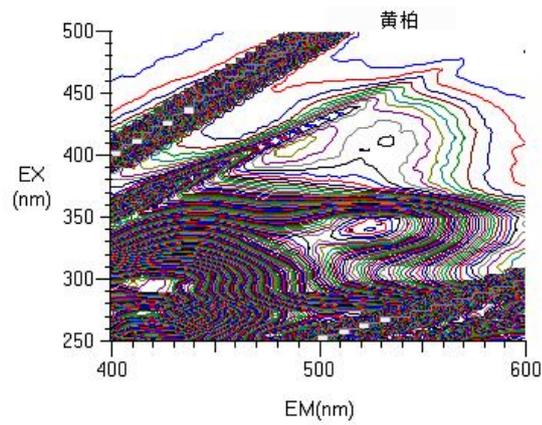


图 A.2 黄柏的三维荧光光谱图

附录 B  
(资料性)

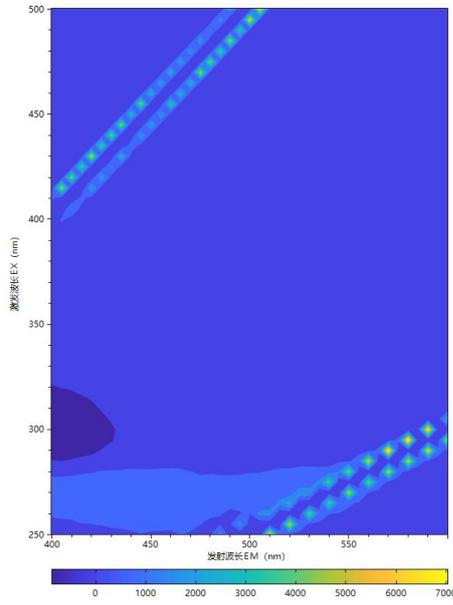


图 B.1 黄柏原始光谱图

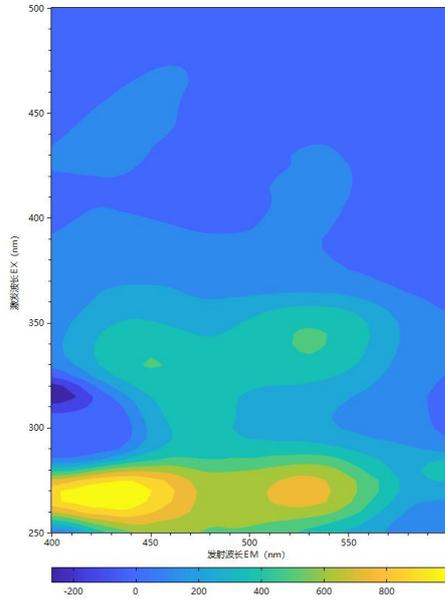
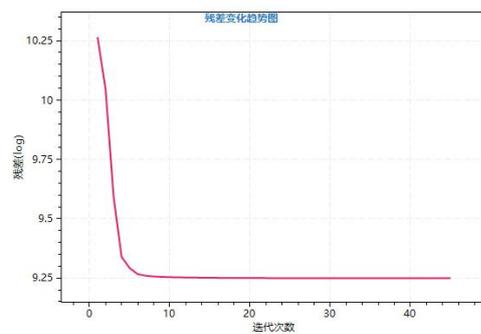
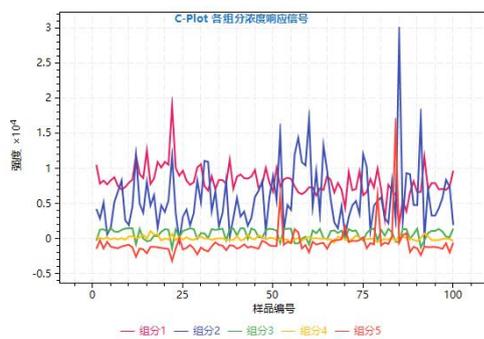
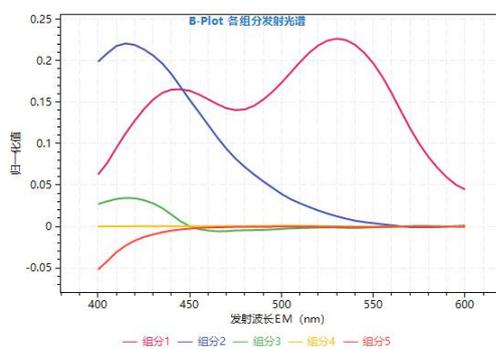
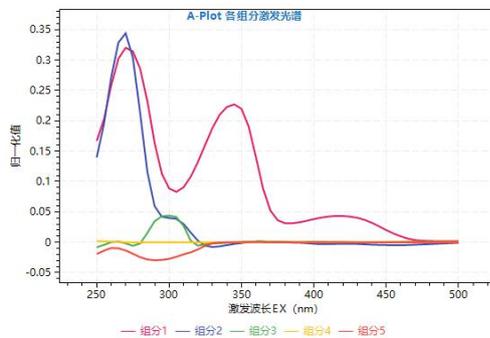


图 B.2 扣除散射后的光谱图

## 附录 C (资料性)



### 附录 D (资料性)

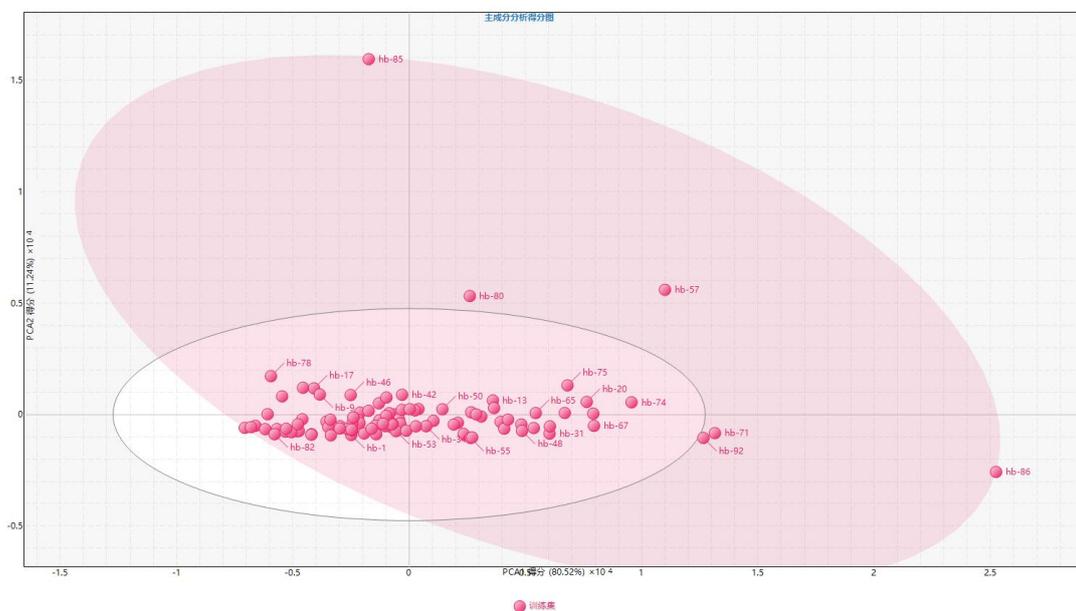


图 D.1 主成分分析得分图

## 附录 E (资料性)

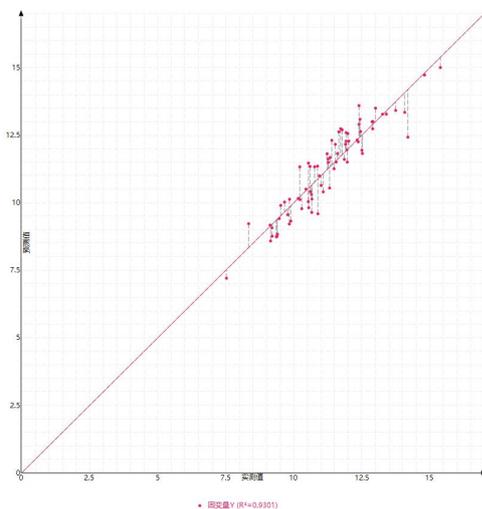


图 E.1 回归分析拟合图

表 E.1 回归模型质量评价结果汇总

样品集	$R^2$	RMSE	回收率(%)	RSD%	水平数	线性范围
训练集	0.93	0.58	99.97	5.27	75	7.52~15.39
交叉验证	0.93	0.62	100.51	5.62	75	7.52~15.39
验证集	0.83	0.04	102.75	6.63	18	8.80~12.60