

绞股蓝水分近红外定量模型的建立

涂瑶生¹, 陈朋^{1,2*}, 孙冬梅¹, 王洛临¹, 李智勇¹, 练宇鹏³

(1. 广东省中医研究所, 广州 510095; 2. 广州中医药大学, 广州 510405;
3. 中山大学新华学院, 广州 510520)

[摘要] **目的:**运用近红外光谱技术对绞股蓝药材中水分进行快速测定。**方法:**采集不同产地不同批号绞股蓝样品的近红外光谱图,结合 TQ Analyst 8.0 软件,将其经一阶导数及 Norris 平滑(有效位数 3,有效位间间隔 3)预处理,在 10 000~4 000 cm^{-1} 谱段内,选择前 10 个主成分,采用偏最小二乘法建立绞股蓝水分近红外定量模型。**结果:**所建模型相关系数 $r=0.9688$,交叉验证均方根偏差(RMSECV)=0.303,预测均方根偏差(RMSEP)=0.284,验证集预测回收率为 101.14% ($n=11$),RSD 2.16%,并且仪器精密度良好,样品重复性佳,在 2 h 内样品检测稳定。**结论:**该研究所建立的模型性能较好,绞股蓝水分含量测定较准确。可以应用于绞股蓝药材水分的快速测定。

[关键词] 绞股蓝; 水分含量; 近红外光谱

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2014)16-0071-04

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2014160071

Establishing the Quantitative Model of Moisture Content in Gynoste Pentaphylli Herba Seu Radix Mak by Near Infrared Spectroscopy

TU Yao-sheng¹, CHEN Peng^{1,2*}, SUN Dong-mei¹, WANG Luo-lin¹, LI Zhi-yong¹, LIAN Yu-peng³

(1. Guangdong Province Municipal Institute of Traditional Chinese Medicine, Guangzhou 510095, China;
2. Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510405, China;
3. Xinhua College of SUN YAT-SEN University, Guangzhou 510520, China)

[Abstract] **Objective:** This study aimed at establishing the quantitative model of moisture content in Gynoste Pentaphylli Herba Seu Radix by near infrared reflectance spectroscopy (NIRS). **Method:** The near infrared spectra of Gynoste Pentaphylli Herba Seu Radix with different batch numbers from various areas were collected, and were subject to the analysis by TQ Analyst 8.0 software. Near infrared spectra of all the samples were pretreated with First Derivative and Norris filter (3 segment length and 3 gap between segments). The wavebands containing 10 000-4 000 cm^{-1} were collected and the first 10 factors were used. The calibration model was built with partial least squares (PLS). **Result:** The quantitative calibration model had good correlation coefficients (R) and low root mean square error of cross validation (RMSECV), with a r value equal to 0.9688, RMSECV value equal to 0.303 and root mean square error of prediction (RMSEP) value equal to 0.284. The average rate of recovery of validation was 101.14% ($n=11$), RSD 2.16%. At the same time, NIR instrument was good in precision. The samples had great performance in reproducibility and stability within 2 h. **Conclusion:** The quantitative calibration model of moisture content in Gynoste Pentaphylli Herba Seu Radix was proven to be credible and could be used to predict the moisture content in Gynoste Pentaphylli Herba Seu Radix accurately. The simple, fast and non-destructive advantages of NIRS can be used for quality control and

[收稿日期] 20131016(011)

[基金项目] 广东省战略性新兴产业核心技术攻关项目(2012A080800003)

[第一作者] 涂瑶生, 博士, 研究员, 从事新工艺、新剂型在中药研究中的应用, Tel:020-83576736, E-mail:tuyaos@21cn.com

[通讯作者] * 陈朋, 在读博士生, 从事中药制剂研究, Tel:13512795196, E-mail:516276923@qq.com

exploitation of *Gynoste Pentaphylli Herba Seu Radix*.

[Key words] *Gynoste Pentaphylli Herba Seu Radix*; moisture content; near infrared spectroscopy

绞股蓝又名七叶胆、七叶参^[1]具有延缓衰老、抗肿瘤、降血脂、增强免疫力、保护心脏和肝脏等作用^[2]。控制水分对药材的收购、储存等方面具有重要的意义。传统水分测定法既耗时又会破坏样本。因此建立一种快速、简便、绿色、无损的检测新方法尤为迫切。近红外光谱技术作为一种高新分析测试技术,具有分析速度快、无需试剂、无污染及同时测定多组分等优点,已被广泛应用于农业、医药、化工等领域^[3]。本研究以绞股蓝药材为研究对象,利用近红外漫反射光谱法采集绞股蓝近红外光谱图并借助化学计量学软件,从近红外图谱中提取特定信息,建立光谱特征与水分之间的数学模型,预测绞股蓝样品的含水量,从而为绞股蓝的质量控制及其相关产品的开发生产提供一定的参考依据。

1 仪器与试剂

Thermo Fisher Nicolet 6700 型傅里叶变换近红外光谱仪(配有积分球漫反射附件、铟镓砷(InGaAs)检测器、CaF₂分束器、样品旋转器、石英样品杯、OMNIC 光谱采集软件和 TQ Analyst 8.0 分析软件),XS205DualRange 型电子分析天平(METTLER TOLEDO)。

绞股蓝药材为 2013 年 3 月至 2013 年 8 月期间收集于广东、广西、福建、云南、安徽等地,由广东省中医研究所毕晓黎主任中药师鉴定均为葫芦科植物绞股蓝 *Gynocemma pentaphyllum* (Thunb) Mak 的干燥地上部分。经粉碎,过 80 目筛,备用。

2 方法与结果

2.1 绞股蓝药材水分的测定 精密称取绞股蓝样品 2.5 g,按 2010 年版《中国药典》一部(附录 IX H)水分第一法操作^[4]。每批样品平行 2 份。测定结果,77 份样品水分范围为 6.89% ~ 12.00%,平均值 9.06%。

2.2 近红外光谱的采集 取绞股蓝样品约 4 g,置石英样品杯中,轻摇使其分布均匀。采用积分球漫反射部件进行测样。分辨率 4 cm⁻¹,扫描次数 32 次,扫描范围 10 000 ~ 4 000 cm⁻¹,增益值 1,温度(20 ± 2) °C,相对湿度 30% ~ 40%。每批样品重复装填并扫描 3 次,求平均图谱。77 批样品近红外图谱叠加见图 1。

2.3 绞股蓝水分近红外模型的建立

2.3.1 校正集和验证集的选择 应用 TQAnalyst

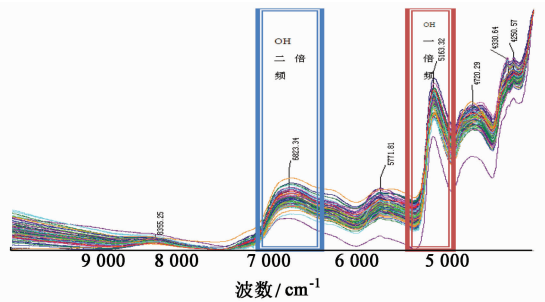


图 1 77 批样品近红外光谱叠加

8.0 软件,从 77 份样品中挑选出 66 份具有代表性的样品作为校正集,其水分范围为 6.89% ~ 12.00%,平均值为 8.93%。其余 11 份样品作为验证集,其水分为 7.47% ~ 11.37%,平均值为 9.82%,验证集水分在校正集范围内,此校正集和验证集可用于绞股蓝水分近红外模型的建立。

2.3.2 光谱预处理 适当对原始光谱进行预处理,有利于模型参数的优化。本研究采取偏最小二乘法(PLS)建立定量模型。以预测均方根偏差(RMSEP)、交互验证均方根偏差(RMSECV)及相关系数 *r* 为综合指标,考察不同预处理方法对模型的影响。最终确定预处理方法为一阶导数加 Norris 平滑,详见表 1、图 2。

表 1 不同预处理对模型的影响

光谱预处理方法	RMSEP	RMSECV	<i>r</i>
无	0.440	0.570	0.888 2
MSC	0.412	0.431	0.936 0
一阶导数	0.456	0.492	0.915 6
二阶导数	1.310	1.090	0.477 9
一阶导数 + SG	0.458	0.495	0.914 2
一阶导数 + Norris	0.387	0.323	0.964 4
一阶导数 + MSC	0.498	0.479	0.924 1
二阶导数 + SG	0.909	0.897	0.681 9
二阶导数 + Norris	0.459	0.377	0.951 4
二阶导数 + MSC	1.300	1.110	0.461 8
一阶导数 + SG + MSC	0.473	0.487	0.917 1
一阶导数 + Norris + MSC	0.461	0.447	0.933 0
二阶导数 + SG + MSC	0.939	0.891	0.688 4
二阶导数 + Norris + MSC	0.421	0.420	0.941 5

注: SG: Savitzky-Golay 滤波器; MSC: Multiplicative Scatter Correction 多元信号校正。

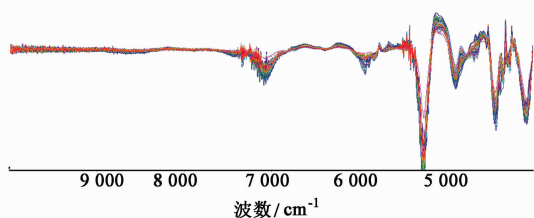


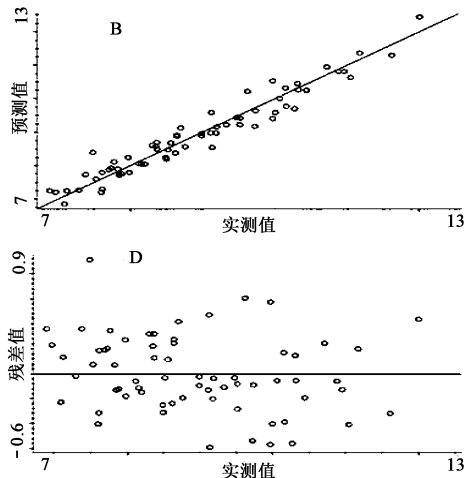
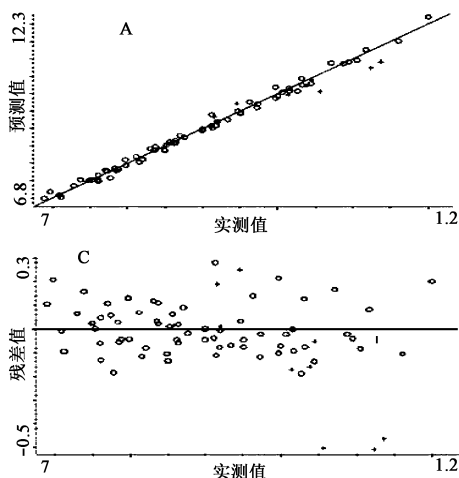
图2 绞股蓝水分近红外模型预处理效果

Norris 导数使用“有效位数”和“有效位间间隔”来确定平滑的程度。“有效位间间隔”为连续两段有效位数间的距离,常用数据点数来表示。本研究考察了“有效位数”和“有效位间间隔”对模型参数的影响,最终确定为“有效位数”3;“有效位间间隔”3,详见表2。

表2 Norris 平滑参数对模型的影响

有效位数/ 有效位间间隔	RMSEP	RMSECV	<i>r</i>
5/5	0.387	0.323	0.964 4
7/5	0.376	0.319	0.965 5
9/5	0.375	0.315	0.966 3
3/5	0.355	0.317	0.965 9
3/3	0.284	0.303	0.968 8
3/7	0.387	0.322	0.964 7
3/9	0.386	0.322	0.964 7

2.3.3 建模谱段的选择 建立模型时,选择的光谱区间,应包含待测组分的最大信息量,并尽可能地降低噪声的干扰,以改善模型的性能^[5]。水分在 6 950 cm^{-1} 的一级倍频和 5 155 cm^{-1} 的合频吸收峰较强,且其谱带较宽,因此建立模型谱带应包含此两个波



A. 校正均方根误差、预测均方根误差及相关系数;B. 交叉验证均方根误差及相关系数;C. 模型残差分布;D. 交叉验证残差分布

图4 绞股蓝水分含量近红外模型参数

段其中一个或两个。本研究通过对多个谱段进行比较,最终选择谱段为 10 000 ~ 4 000 cm^{-1} ,见表3。

表3 不同波长范围对模型的影响

频数范围/ cm^{-1}	RMSEP	RMSECV	<i>r</i>
10 000 ~ 4 000	0.284	0.303	0.968 8
9 090 ~ 6 250	0.461	0.462	0.926 2
6 250 ~ 4 000	0.396	0.329	0.963 3

2.3.4 模型主成分数的选择 在建立近红外模型时,主成分数对模型参数有很大的影响,主成分选择过少,会导致提取信息不全,模型预测性能下降,主成分选择过多,会导致模型过于复杂,出现过拟合现象^[6]。RMSECV 为指标,选取最佳的建模因子数。最终,确定最佳因子数为 10。见图3。

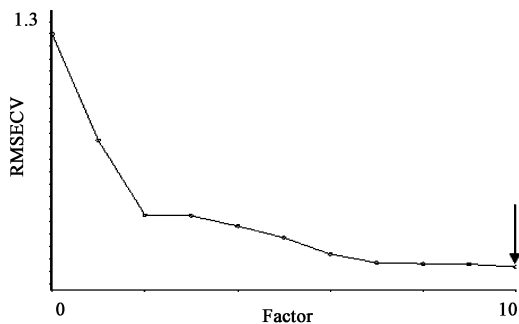


图3 绞股蓝水分近红外模型主成分

2.3.5 定量模型的建立 运用 TQAnalyst 8.0 软件,通过 PLS 法建模,77 份样品用于建模(其中 66 份样品为校正集,11 份样品为验证集),选用一阶导数 + Norris 平滑对光谱进行预处理,光谱范围采用 10 000 ~ 4 000 cm^{-1} ,因子数为 10,结果 RMSECV = 0.303, RMSEP = 0.284, $r = 0.968 8$ 。见图4。

2.3.6 模型的验证 根据上述建立的模型,对验证集 11 个样品进行验证,并与传统烘干法测定值进行比较,结果见表 4。

应用 SPSS 17.0 软件,将 11 份验证集样品的模

型预测值与其参考值进行配对 *t* 检验,结果给定显著性水平 0.05,*t* 检验值为 0.151,小于给定值,即两组数据间差异无统计学意义,说明该模型预测准确度良好。

表 4 绞股蓝水分定量模型验证

项目	样本数	<i>r</i>	RMSEC /RMSEP	误差绝对 值均值	最大误差 绝对值	相对误差 绝对值均值/%	平均预测 回收/%
校正集	66	0.996 5	0.101	0.082	0.28	0.93	99.99
验证集	11	0.983 1	0.284	0.210	0.51	2.02	101.14

2.4 方法学考察

2.4.1 精密度试验 随机从 77 批样品中挑选 3 号样,重复扫描 20 次,将所得光谱代入所建立模型预测其水分含量,结果 20 次扫描预测值的 RSD 2.58%,表明仪器精密度良好。

2.4.2 重复性试验 随机从 77 批样品中挑选 3 号样,进行近红外扫描,样品重复装填 6 次,将所得图谱代入所建立模型,以考察测样的重复性。结果预测值的 RSD 2.05%。表明该方法重复性良好。

2.4.3 稳定性试验 随机从 77 批样品中挑选 3 号样,每 20 min 扫描 1 次,于 2 h 内共扫描 7 次,以考察样品稳定性。结果预测值的 RSD 2.08%,表明样品在 2 h 内稳定。

3 讨论

近红外分析方法属于二次分析方法,因此准确度和精确度高的样品参考值及高质量的近红外谱图对于模型的建立至关重要^[7]。同时,由于近红外光谱具有弱吸收、摩尔吸光系数低的特点,因此 0.1% 含量是天然产物近红外光谱定量分析公认的检测限^[8]。本研究从广东、广西、福建、云南、安徽等地收集了不同批次的绞股蓝药材,其水分分布较为均匀,水分参考值采用药典规定的烘干法,每批样品平行 2 份测定,测得 77 批绞股蓝水分为 6.89% ~ 12.00%,超过近红外光谱的最低检测限,因此可以用这 77 批药材建立绞股蓝水分近红外定量模型。

相对分析误差/Ratio of performance to standard deviate (RPD) 是独立于模型稳健性的、评价模型分辨能力的重要评价参数。按照美国谷物化学师协会等国际分析组织提出的标准,RPD 属于指标性评价参数:对于不同分析目的,其相应的评价指标是:

$RPD \geq 2.5(5,10)$ ^[8]。本研究所建立模型的 $RPD = 4.036$ (*r* 为交叉验证的相关系数),表明该模型具有良好的分辨能力。

绞股蓝药材目前缺乏统一的质量控制标准,道地药材产地不明确,各地药材质量差别大,控制水分对药材的收购、储存以及后续产品等方面具有重要的意义。本研究结合近红外光谱法和化学计量学,建立绞股蓝水分近红外定量模型,结果表明模型稳健性良好,预测性能较高,将其应用到绞股蓝药材的质量控制及在线监测等方面,将具有广阔的应用前景。

[参考文献]

- [1] 陈秀珍. 绞股蓝化学成分的研究[J]. 广西植物, 1991, 11(1):71.
- [2] 杨静. 绞股蓝化学成分研究[J]. 陕西中医, 2000, 21(8):377.
- [3] 周嵩煜. 近红外光谱技术在药物分析中的应用[J]. 中国药业, 2010, 19(18):84.
- [4] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部[S]. 北京:中国医药科技出版社, 2010:52.
- [5] 白雁, 张威, 王星. 近红外光谱法测定不同厂家银黄颗粒中黄芩苷含量[J]. 中国中药杂志, 2010, 35(2):166.
- [6] 陆婉珍. 现代近红外光谱分析技术[M]. 北京:中国石化出版社, 2007:30.
- [7] 陆婉珍. 现代近红外光谱分析技术[M]. 北京:中国石化出版社, 2010:175.
- [8] 严衍禄, 陈斌, 朱大洲, 等. 近红外光谱分析的原理、技术与应用[M]. 北京:中国轻工业出版社, 2013:50, 162.

[责任编辑 顾雪竹]