

近红外光谱法结合 PLS 快速测定木香药材中水分

雷敬卫, 樊明月, 白雁*, 郭艳利, 张强, 谢彩侠
(河南中医学院, 郑州 450046)

[摘要] 目的:采用近红外光谱技术结合 PLS 建立一种木香药材中水分的快速测定方法。方法:运用近红外漫反射光谱技术采集木香的近红外漫反射光谱,以甲苯法测定的含量为参考值,结合偏最小二乘法(PLS)建立木香药材中水分的定量分析模型,并用未知样品验证该模型。结果:所建水分定量模型的校正集内部交叉验证相关系数(R^2)、校正均方差(RMSEC)和预测均方差(RMSEP)分别为0.982 9, 0.178, 0.196;验证集 NIR 预测值与甲苯法参考值的 t 检验值为 -0.615, 双侧 $P > 0.05$, 差异无统计学意义。结论:该方法操作简便,测定快速,结果准确,可用于木香药材中水分含量的快速测定。

[关键词] 近红外光谱技术; 偏最小二乘法; 木香; 水分; 快速测定

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2014)19-0089-04

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2014190089

Rapid Determination of Moisture in Aucklandiae Radix by Near-infrared Spectroscopy with PLS

LEI Jing-wei, FAN Ming-yue, BAI Yan*, GUO Yan-li, ZHANG Qiang, XIE Cai-xia
(Henan University of Traditional Chinese Medicine, Zhengzhou 450046, China)

[Abstract] **Objective:** This paper mainly studied the application of near infrared spectroscopy with PLS for rapid determination of moisture in Aucklandiae Radix. **Method:** Through collecting near-infrared spectraby of Aucklandiae Radix by Near-infrared diffuse reflectance spectroscopy technique, with toluene method measurements as a reference value, the quantitative model of moisture was established by partial least squares (PLS), and it was

[收稿日期] 20130823(005)

[基金项目] 河南省教育厅科学技术研究重点项目(14B360007);河南中医学院研究生创新基金(2013YCX014)

[第一作者] 雷敬卫,博士,副教授,从事中药质量控制研究, Tel:0371-65955127, E-mail:ljwei@hactcm.edu.cn

[通讯作者] *白雁,教授,博士研究生导师,从事利用现代分析手段对中药品质进行分析和评价, Tel:0371-65962967, E-mail:934337931@qq.com

- [3] 何祥久,邱峰,姚新生. 栝楼属植物化学成分[J]. 国外医药:植物药分册,2002,17(1):11.
- [4] 史国玉,刘伟,耿岩玲,等. 瓜蒌皮药材的 HPLC 指纹图谱[J]. 中国实验方剂学杂志,2014,20(1):73.
- [5] 孔浩,郭庆梅,郭新苗,等. 柱前衍生高效液相色谱法测定瓜蒌皮中游离氨基酸含量[J]. 山东中医药大学学报,2014,38(3):254.
- [6] 孙文,巢志茂,王淳等. 瓜蒌饮片中总糖及还原糖的含量测定[J]. 中国实验方剂学杂志,2013,19(9):96.
- [7] 薛珺,李凤仪. 中草药中槲皮素测定方法的研究[J]. 江西化工,2006,4:9.
- [8] 苏东林,单杨,李高阳. 比色法测定柑桔皮中总黄酮含量的研究[J]. 中国酿造,2008(3):69.
- [9] 郑媛媛,李辰,封士兰,等. 油橄榄叶中总黄酮含量测定方法探讨[J]. 光谱学与光谱分析,2011,31(2):547.
- [10] 钟方丽,王晓林,孙晓丽,等. 刺玫叶中金丝桃苷和总黄酮含量的测定[J]. 食品科学,2013,34(2):231.
- [11] 裴咏萍,李维林,张涵庆. 三氯化铝比色法测定中药中总黄酮含量的方法改进[J]. 现代中药研究与实践,2009,23(4):58.

[责任编辑 顾雪竹]

verified by the unknown samples. **Result:** The correlation coefficients (R²), the root-mean-square error of calibration (RMSEC) and the root-mean-square error of cross-validation (RMSEP) of the quantitative calibration model of moisture were 0.982 9, 0.178 and 0.196, respectively; test value of NIR prediction values and the reference values of the validation set was -0.615 (bilateral $P > 0.05$), implying the difference was not significant. **Conclusion:** The method is simple, quick, and accurate, and it can be applied to the rapid determination of moisture in Aucklandiae Radix.

[Key words] near-infrared spectroscopy; partial least squares; Aucklandiae Radix; moisture; rapid determination

木香是菊科植物云木香和川木香的通称,为香连丸、木香顺气丸、归脾丸、香砂养胃丸等中药制剂的主要原料。木香味辛、苦,性温;归脾、胃、胆、大肠、三焦经,辛行苦泄,可升可降,行气止痛,疏肝利胆,健脾消食,是中医上常用的中药之一。2010 年版《中国药典》对木香的质量控制做出了明确的规定,其水分不得过 14.0% (附录 IX H 第二法)。由于木香中水分含量的高低直接影响木香药材的贮存及质量,故控制木香药材中水分的含量对评价木香质量有重要的意义。虽然采用甲苯法测定其水分并不破坏其中挥发油,但甲苯为毒性有机试剂,并具有挥发性,该法取样量大、检定时间长,浪费试剂污染环境,对人体伤害较大。

近红外光谱分析技术是一种快速无损的绿色分析技术,具有快速分析样品、处理简单、无需试剂消耗等特点^[1-2],目前已经陆续用于药效成分的含量测定^[3]、中药纯化过程分析^[4]、天然药物鉴别^[5-6]和药材的快速模式识别^[7-8]等。根据目前的研究进展,这种快速检测技术是最有希望在中药生产过程实现工业化应用。本研究以木香为研究对象,采用近红外漫反射光谱技术结合 PLS 建立了木香中水分的定量分析模型,为大批量木香样品中水分测定提供一种新的方法,同时也为木香的快速评价与在线检测提供参考和依据。

1 材料

6700 型近红外光谱仪(配有 InGaAs 检测器,50 mL 标准石英杯,OMNIC 光谱采集软件,TQAnalyst8.0 软件,美国 Thermo Nicolet 公司),FW-200 型高速药材粉碎机(北京中兴伟业仪器有限公司),101A-2B 型电热鼓风干燥箱(上海实验仪器厂有限公司);试验用样品由河南省宛西制药股份有限公司提供,由河南中医学院董诚明教授鉴定为菊科植物木香 *Aucklandia lappa* Decne. 的根,共 86 份。

2 方法与结果

2.1 近红外光谱的采集 取上述 86 份样品适量,

粉碎,过 80 目筛,取粉末约 5 g 装入石英杯,混合均匀,依以下条件进行扫描,采集光谱图。测样方式:积分球漫反射,分辨率 8 cm^{-1} ,扫描次数 64 次,扫描范围 $12\ 000 \sim 4\ 000\text{ cm}^{-1}$,温度 $25 \sim 30\text{ }^\circ\text{C}$,相对湿度 $55\% \sim 65\%$ 。每个样品重复扫描 3 次,计算平均光谱以建立模型,86 份样品的近红外光谱叠加见图 1。

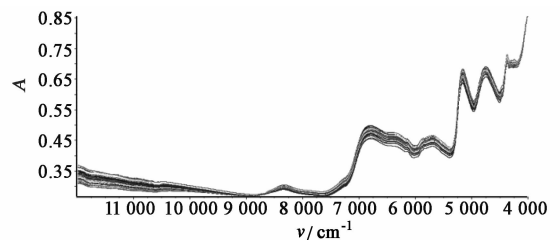


图 1 86 份木香的 NIR 原始光谱叠加

2.2 木香中水分的参考值测定 由于木香中含有大量的挥发油成分,故其水分的测定采用 2010 年版《中国药典》一部附录 IX H 水分测定法中第二法“甲苯法”^[9]。

精密称取木香样品约 30 g,装入水分测定仪的圆底烧瓶 A 中,加甲苯 200 mL,将仪器各部分连接,自冷凝管顶端加入甲苯,至充满 B 管的狭细部分。待甲苯开始沸腾时,调节温度,使每秒钟馏出 2 滴。待测定管刻度部分的水量不再增加时,将冷凝管内部用甲苯冲洗,继续蒸馏 5 min,放冷至室温。检读水量,并计算各木香样品中的含水量(%),结果见表 1。

2.3 木香中水分含量定量模型的建立与验证 从试验用 86 份木香样品中,根据木香中水分的分布范围,选择其中 65 份有代表性的样品组成校正集,其余 21 个样品为验证集,其含量范围处于校正集样品含量范围之内^[10]。表 2 为校正集和验证集样品水分的分布范围。

2.3.1 光谱预处理方法的选择 近红外光谱的采集容易受颜色、样品颗粒大小等影响,导致近红外光谱的基线漂移和平移,因此,必须对原始光谱进行预

表 1 木香中水分测定 %

No.	水分	No.	水分	No.	水分	No.	水分
1	10.53	23	10.83	45	10.15	67	10.64
2	12.73	24	10.80	46	10.55	68	10.84
3	12.13	25	10.42	47	10.78	69	12.85
4	10.85	26	10.39	48	11.00	70	10.62
5	10.56	27	11.62	49	9.73	71	10.12
6	9.80	28	11.38	50	9.98	72	12.61
7	9.93	29	11.76	51	11.30	73	10.73
8	10.04	30	10.26	52	11.51	74	10.74
9	11.40	31	10.20	53	11.99	75	11.43
10	9.54	32	11.86	54	11.16	76	11.88
11	10.29	33	10.10	55	12.59	77	11.71
12	10.00	34	10.78	56	12.04	78	12.47
13	10.37	35	11.55	57	9.06	79	10.74
14	10.50	36	10.38	58	10.52	80	13.15
15	11.55	37	10.35	59	10.65	81	12.06
16	9.33	38	11.01	60	11.35	82	11.61
17	11.13	39	10.82	61	11.25	83	11.65
18	10.08	40	13.06	62	10.76	84	13.26
19	10.89	41	11.21	63	12.02	85	11.54
20	9.93	42	11.86	64	11.75	86	10.18
21	10.35	43	11.52	65	10.93		
22	11.67	44	11.03	66	10.64		

表 2 校正集与验证集样品水分分布范围

样品	样品数量	最大值/%	最小值/%	平均值/%
校正集	65	13.26	9.06	11.05
验证集	21	12.06	9.93	10.98

处理,常用的预处理方法有多元散射校正法(MSC),标准归一化法(SNV),一阶导数法(First derivative),二阶导数法(Second derivative)^[11]等。表3为使用不同预处理方法后,校正集内部交叉验证相关系数(R^2)、校正均方差(RMSEC)及验证集预测均方差(RMSEP)的比较。其中 R^2 越接近1,RMSEC和RMSEP越小越好^[12]。由表可以看出,MSC+Second Derivative处理方法效果最好。

2.3.2 建模波段的选择 在建立模型时需要不断选择特征波段以调整模型的准确性^[13],以 R^2 和RMSECV为指标,对不同波段进行手动优化比较。结果见表4,在4 045.81~10 648.99 cm^{-1} 波谱区间, R^2 最接近1,RMSECV最小,故选择此波段为最佳建模波段。

表 3 不同预处理方法对定量模型性能的影响

光谱预处理方法	R^2	RMSEC	RMSEP
Constant (无)	0.6109	0.767	0.785
MSC (多元散射校正)	0.4601	0.860	0.624
SNV (标准归一化)	0.4599	0.860	0.623
SNV + First Derivative (一阶导数)	0.8780	0.463	0.347
MSC + First Derivative (一阶导数)	0.9123	0.396	0.322
MSC + Second Derivative (二阶导数)	0.9829	0.178	0.196

表 4 不同光谱范围对 R^2 和 RMSECV 的影响

光谱范围/ cm^{-1}	R^2	RMSECV
4 045.81 ~ 10 648.99	0.982 9	0.827
4 034.35 ~ 7 624.13	0.821 0	0.863
5 084.68 ~ 8 766.89	0.975 3	0.902

2.3.3 主成分数的选择 用PLS法建立近红外定量模型时,主成分数的选择对模型的优劣有显著影响。从图2中可以看出,当PLS因子数为5时RMSECV较小,为最佳建模主成分数。

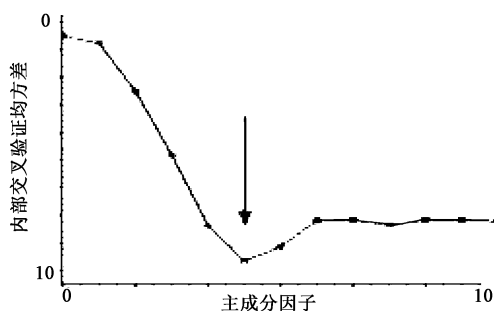


图 2 RMSECV 值随主成分的变化

2.3.4 定量模型的建立 运用TQAnalyst 8.0软件中的PLS法建立模型,对光谱进行MSC+Second derivative预处理,采用4 045.81~10 648.99 cm^{-1} 波段,5个主成分数进行建模,所建立模型的 $R^2 = 0.982 9$,RMSEC = 0.178, RMSEP = 0.196。NIR预测值与甲苯法参考值的相关性见图3,偏差见图4,从图中可以看出NIR预测值与甲苯法参考值接近,该模型可用于木香中水分的定量分析。

2.3.5 定量模型的验证 将21份验证集样品的NIR图谱输入校正模型,预测其水分含量,如表5所示。经配对 t 检验,21个样品NIR预测值与甲苯法参考值的 t 检验值为-0.615,双侧 $P > 0.05$ 。说明近红外预测值与甲苯法参考值之间差异无统计学意义。

3 讨论

中药中水分的含量与药材的质量密切相关,而

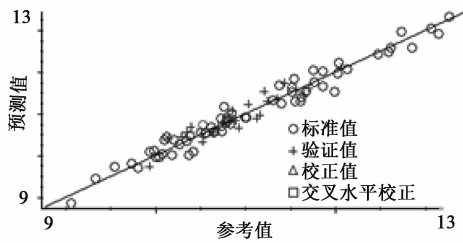


图 3 NIR 预测值与参考值的相关性

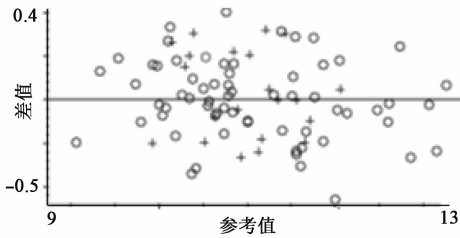


图 4 NIR 预测值与参考值的偏差

表 5 验证集样品水分的近红外预测值与甲苯法参考值 %

No.	甲苯法	近红外	No.	甲苯法	近红外
1	10.85	11.07	12	10.52	10.32
2	9.93	9.73	13	11.35	11.35
3	10.29	10.44	14	11.25	11.30
4	11.13	10.89	15	10.93	10.67
5	10.89	10.84	16	10.64	10.56
6	10.35	10.55	17	11.43	11.73
7	10.39	10.69	18	11.71	11.61
8	11.21	11.53	19	11.56	11.56
9	11.03	11.23	20	12.06	12.11
10	10.15	10.42	21	11.65	11.46
11	11.16	10.98			

其质量的优劣直接关系到临床治疗效果,因此严格控制药材水分含量势在必行。本实验利用近红外光谱分析技术结合 PLS 建立了木香中水分的定量分析模型,该方法为制药企业实现快速、批量检测提供了参考和依据。

近红外光谱分析技术是一种新兴的绿色分析技术,分析过程不用化学试剂、不污染环境,节约检测成本,能真正实现“绿色”检验,同时有利于制药企业内部实现对药材的快速检测,提高分析效率,节约分析成本,为近红外光谱分析技术在中药质量控制研究中的应用提供了参考。

[参考文献]

[1] 王宁,傅春华,周爱敏,等. 近红外漫反射光谱法直接测定小儿消食片中总有机酸的含量[J]. 中国中药杂志, 2007, 32(15): 1597.

[2] 任卫波,韩建国,张蕴薇,等. 近红外光谱分析原理及其在牧草航天育种的应用前景[J]. 光谱学与光谱分析, 2008, 28(2): 303.

[3] 刘雪松,程翼宇. 用于中药药品质量快速检测的近红外光谱模糊神经元分类方法[J]. 化学学报, 2005, 63(24): 2216.

[4] 杨南林,程翼宇,瞿海斌. 1 种用于中药纯化过程的近红外光谱分析新方法[J]. 化学学报, 2003, 61(5): 742.

[5] Laasonen M, Harmia P T, Simard C L, et al. Fast identification of echinacea purpurea dried roots using near-infrared spectroscopy [J]. Ana Chem, 2002, 74(11): 2493.

[6] 汤彦丰,张卓勇,范国强. 中草药大黄的近红外光谱和人工神经网络鉴别研究[J]. 光谱学与光谱分析, 2004, 24(11): 1348.

[7] Woo Y A, Kim H J, Ze K R. Near-infrared (NIR) spectroscopy for the non-destructive and fast determination of geographical origin of Angelicae gigantis Radix [J]. J Pharm Biomed, 2005, 36(5): 955.

[8] 瞿海斌,杨海雷,程翼宇. 近红外漫反射光谱法快速无损鉴别阿胶真伪[J]. 光谱学与光谱分析, 2006, 26(1): 60.

[9] 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: 57.

[10] 李家春,萧伟,孙兰,等. 基于近红外光谱的白芍药材快速分析[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(6): 57.

[11] 吴利敏,杨琼,周尚,等. 近红外光谱法快速测定虎杖中虎杖苷、白藜藜醇、大黄素的含量[J]. 药物分析杂志, 2012, 32(9): 1583.

[12] 章顺楠,杨海雷,刘占强,等. 近红外光谱法在线检测复方丹参滴丸料液中有效成分含量[J]. 药物分析杂志, 2009, 29(2): 192.

[13] 韩吴琦,黄永丽,郭兴辉. 近红外光谱鉴别法在中成药领域应用之初探[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(22): 166.

[责任编辑 顾雪竹]