

# 筋骨痛消丸水浸出物含量的近红外光谱快速测定

张强, 白雁, 雷敬卫\*, 谢彩侠, 樊明月, 胡小莉  
(河南中医学院, 郑州 450046)

**[摘要]** 目的:运用近红外光谱技术(NIRS),结合偏最小二乘法(PLS),对筋骨痛消丸中水浸出物进行快速测定。方法:将近红外光谱图与筋骨痛消丸水浸出物的含量进行关联,对光谱预处理方法和建模区间进行考察;采用近红外光谱技术结合偏最小二乘法,建立测定筋骨痛消丸中水浸出物含量的近红外光谱定量分析模型。结果:98份样品所建立的定量分析模型内部交叉验证决定系数( $R^2$ )为0.983 26,校正均方根偏差(RMSEC)为0.21,预测均方根偏差(RMSEP)为0.22。18份验证集样品真实值和预测值的平均相对偏差为0.09%。结论:近红外光谱技术结合偏最小二乘法建立的定量分析模型可用于对筋骨痛消丸中水浸出物含量的快速测定。

**[关键词]** 近红外光谱技术; 偏最小二乘法; 筋骨痛消丸; 水浸出物; 快速测定

**[中图分类号]** R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2015)04-0052-04

**[doi]** 10.13422/j.cnki.syfjx.2015040052

**[网络出版地址]** <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20141229.1042.012.html>

**[网络出版时间]** 2014-12-29 10:42

## Rapid Determination of Water-extract in Jingutongxiao Pills by Near-infrared Spectroscopy

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

**[Abstract]** **Objective:** To rapid determine the content of water-extract in Jingutongxiao pills by near-infrared spectroscopy (NIRS) combined with partial least squares (PLS). **Method:** The near-infrared spectra was associated with the content of water-extract in Jingutongxiao pills, and the spectral pretreatment method and modeling interval were studied. The quantitative analysis model of water-extract in Jingutongxiao pills was established by combining the NIRS with PLS. **Result:** The 98 samples of the quantitative analysis model for correlation coefficients ( $R^2$ ), root mean square error of calibration (RMSEC) and root mean square error of predication (RMSEP) were 0.983 26, 0.21 and 0.22, respectively. 18 validation samples of real value and prediction value of the mean relative deviation is 0.09%. **Conclusion:** It is feasible to rapid determine the content of water-extract in Jingutongxiao pills by NIRS and PLS.

**[Key words]** near-infrared spectroscopy; partial least squares; Jingutongxiao pills; water-extract; rapid determination

筋骨痛消丸是由河南省洛正制药厂生产的一种医院制剂,是国家中药保护品种,由丹参、白芍、川牛膝等11味中药组成,具有活血行气、温经通络、消肿止痛的功效<sup>[1-2]</sup>。筋骨痛消丸的临床应用越来越广泛,但针对筋骨痛消丸制剂的质量标准还不够完善。

近红外光谱技术是近年来高速发展的高新技术,

从近红外图谱中可以获取样品多种信息,结合化学计量学方法,可以实现中药指标性成分的快速测定。本文对筋骨痛消丸水溶性浸出物做了相关研究,并利用近红外光谱技术的简便快速、无复杂样品前处理、无污染、无破坏性、可在线检测等优点<sup>[3-5]</sup>,结合偏最小二乘法建立筋骨痛消丸中水浸出物含量

**[收稿日期]** 20140526(014)

**[基金项目]** 河南省重点科技攻关计划项目(122102310095);河南中医学院博士科研启动基金项目(BSJJ2011-03);河南省高等学校青年骨干教师项目(2012GGJS-093)

**[第一作者]** 白雁,教授,从事现代分析方法在中药质量分析中的应用研究,Tel:0371-65962967,E-mail:white\_yan@hotmail.com

**[通讯作者]** \*雷敬卫,博士,副教授,从事中药质量分析研究,Tel:0371-65962967,E-mail:longhun126@126.com

的定量分析模型,为筋骨痛消丸的生产过程中的质量监测提供了快捷方法。

## 1 材料

**1.1 仪器** Nicolet 6700 型近红外光谱仪(附 InGaAs 检测器,漫反射积分球,样品旋转器和石英样品杯,OMNIC 光谱采集软件, TQ Analyst 8.0 分析软件,美国 Thermo 公司), AL204 型分析天平(梅特勒-托利多仪器有限公司), HY-8 型调速振荡器(国华电器有限公司), SZ-93 型自动双重纯水蒸馏器(上海亚荣生化仪器厂)。

**1.2 样品来源及制备** 98 份不同批次的筋骨痛消丸样品,粉碎,过 80 目药典筛。

## 2 方法和结果

**2.1 近红外光谱采集** 98 份筋骨痛消丸样品,粉碎(80 目),每份样品取约 8 g 混匀后放入石英样品杯中,垫实,采集光谱。采用积分球漫反射测样,分辨率  $8\text{ cm}^{-1}$ ,扫描 64 次,扫描范围  $4\ 000\sim 12\ 000\text{ cm}^{-1}$ ,温度  $25\sim 30\text{ }^\circ\text{C}$ ,相对湿度  $25\%\sim 35\%$ 。每个样品重复扫描 3 次,计算平均光谱以建立模型。98 份筋骨痛消丸粉末样品的近红外光谱叠加见图 1。

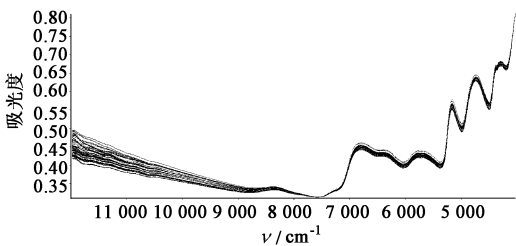


图1 98 份筋骨痛消丸的近红外光谱

Fig.1 Near-infrared spectrograms of 98 batches of Jingtongxiao pills samples

**2.2 水浸出物的含量测定**<sup>[6-7]</sup> 筋骨痛消丸水浸出物采用冷浸法,取供试品约 4 g,精密称定,置 250 mL 的锥形瓶中,精密加水 100 mL,密塞,冷浸,前 6 h 内时时振摇,再静置 18 h,用干燥滤器迅速滤过,精密量取续滤液 20 mL,置已干燥至恒重的蒸发皿中,在水浴上蒸干后,于  $105\text{ }^\circ\text{C}$  干燥 3 h,置干燥器中冷却 30 min,迅速精密称定质量。筋骨痛消丸水浸出物的含量结果见表 1,此数据作为定量分析模型的真实值(参考值)。

### 2.3 筋骨痛消丸水浸出物定量分析模型的建立

**2.3.1 校正集和验证集样品的选择** 根据筋骨痛消丸中水浸出物含量分布情况,从 98 份样品中,选取 80 份有代表性的样品组成校正集,用于建立模型;剩余 18 份样品作为验证集,对模型进行验证,校

正集、验证集选取原则以验证集的水浸出物含量分布范围在校正集的水浸出物含量范围之内。校正集和验证集样品水浸出物含量分布范围见表 2。

表 1 98 份筋骨痛消丸的水浸出物含量

| No. | 水浸出物  | No. | 水浸出物  | No. | 水浸出物  | No. | 水浸出物  |
|-----|-------|-----|-------|-----|-------|-----|-------|
| 1   | 38.72 | 26  | 37.75 | 51  | 40.49 | 76  | 40.78 |
| 2   | 38.76 | 27  | 38.45 | 52  | 40.91 | 77  | 40.59 |
| 3   | 38.91 | 28  | 39.33 | 53  | 41.40 | 78  | 39.22 |
| 4   | 38.53 | 29  | 38.55 | 54  | 40.22 | 79  | 40.13 |
| 5   | 37.95 | 30  | 38.35 | 55  | 40.75 | 80  | 41.35 |
| 6   | 38.55 | 31  | 39.37 | 56  | 40.54 | 81  | 40.13 |
| 7   | 36.64 | 32  | 39.55 | 57  | 41.67 | 82  | 39.43 |
| 8   | 37.74 | 33  | 38.92 | 58  | 41.18 | 83  | 39.92 |
| 9   | 38.16 | 34  | 38.64 | 59  | 41.27 | 84  | 39.80 |
| 10  | 38.52 | 35  | 39.31 | 60  | 41.03 | 85  | 39.61 |
| 11  | 38.07 | 36  | 39.66 | 61  | 41.44 | 86  | 39.82 |
| 12  | 38.97 | 37  | 39.47 | 62  | 40.10 | 87  | 39.12 |
| 13  | 37.54 | 38  | 40.64 | 63  | 40.71 | 88  | 40.29 |
| 14  | 37.71 | 39  | 39.94 | 64  | 39.88 | 89  | 39.19 |
| 15  | 38.09 | 40  | 40.30 | 65  | 41.30 | 90  | 39.13 |
| 16  | 38.28 | 41  | 39.86 | 66  | 40.31 | 91  | 39.90 |
| 17  | 37.39 | 42  | 40.41 | 67  | 40.11 | 92  | 39.51 |
| 18  | 39.04 | 43  | 39.71 | 68  | 40.23 | 93  | 38.28 |
| 19  | 39.18 | 44  | 40.34 | 69  | 40.24 | 94  | 38.05 |
| 20  | 39.15 | 45  | 40.72 | 70  | 40.14 | 95  | 38.71 |
| 21  | 38.35 | 46  | 40.89 | 71  | 40.04 | 96  | 37.60 |
| 22  | 38.78 | 47  | 38.90 | 72  | 40.54 | 97  | 38.85 |
| 23  | 38.04 | 48  | 41.10 | 73  | 40.97 | 98  | 38.81 |
| 24  | 38.40 | 49  | 41.04 | 74  | 40.95 |     |       |
| 25  | 38.23 | 50  | 41.25 | 75  | 41.63 |     |       |

表 2 校正集与验证集筋骨痛消丸水浸出物含量分布范围

| 样品  | 样本数 | 浸出物   |       |       |
|-----|-----|-------|-------|-------|
|     |     | 最大值   | 最小值   | 平均值   |
| 校正集 | 80  | 41.67 | 36.64 | 39.59 |
| 验证集 | 18  | 41.25 | 37.71 | 39.39 |

**2.3.2 光谱预处理方法的选择**<sup>[8-9]</sup> 在建立模型前,首先对样品的原始吸收光谱进行预处理,以消除噪音和基线漂移等对结果的影响。其中,  $R^2$  越接近

1 越好,越接近 1 真实值与预测值相关性越好;校正均方根偏差 (RMSEC) 和预测均方偏差 (RMSEP) 越小且越接近越好,所建模型适用性越强、预测效果越好<sup>[3]</sup>;同时 RMSEC 应小于 RMSEP 否则易出现过拟合现象。结果以 SNV(标准正交变量变换) + Second Derivative(二阶导数) + ND(Norris Derivative 平滑) 处理效果较好,故选用此法作为光谱预处理方法。不同的光谱预处理方法得到的  $R^2$ , RMSEC 和 RMSEP 比较见表 3。

表 3 不同的光谱预处理方法的影响

Table 3 Effect for predictions of quantitative model established by different spectral pretreatment methods

| 光谱预处理方法                      | $R^2$    | RMSEC | RMSEP |
|------------------------------|----------|-------|-------|
| First Derivative(一阶导数)       | 0.906 52 | 0.49  | 0.42  |
| First Derivative + ND        | 0.980 17 | 0.23  | 0.20  |
| SNV + SG(Savitzky-Golay 平滑)  | 0.937 56 | 0.40  | 0.30  |
| SNV + Second Derivative + SG | 0.996 14 | 0.10  | 0.37  |
| SNV + Second Derivative + ND | 0.983 26 | 0.21  | 0.22  |
| Second Derivative            | 0.991 67 | 0.15  | 0.61  |
| Second Derivative + SG       | 0.978 95 | 0.24  | 0.33  |
| MSC(多元散射校正) + SG             | 0.939 49 | 0.40  | 0.32  |
| MSC + First Derivative + SG  | 0.916 06 | 0.46  | 0.30  |
| MSC + Second Derivative + SG | 0.996 19 | 0.10  | 0.37  |

**2.3.3 建模区间的选择** 本试验采用偏最小二乘法建立定量分析模型。在建立模型时,以  $R^2$  和 RMSEC 为指标,采用 SNV + Second Derivative + ND 光谱预处理方法对多个波段进行手动优选,选择最佳谱段范围。各波段对应的  $R^2$  和 RMSEC 见表 4,在 4 161.63 ~ 8 697.39  $\text{cm}^{-1}$  光谱区间  $R^2$  接近 1, RMSEC 和 RMSEP 较接近,故选择在此波段区间建立模型。

表 4 不同光谱范围的影响

Table 4 Effect of spectral range selection

| 光谱范围/ $\text{cm}^{-1}$ | $R^2$    | RMSEC | RMSEP |
|------------------------|----------|-------|-------|
| 4 014.56 ~ 10 461.75   | 0.987 38 | 0.18  | 0.17  |
| 5 790.52 ~ 7 894.81    | 0.868 52 | 0.57  | 0.46  |
| 4 161.63 ~ 6 849.60    | 0.975 50 | 0.25  | 0.20  |
| 4 161.63 ~ 10 059.83   | 0.997 06 | 0.09  | 0.36  |
| 4 161.63 ~ 8 697.39    | 0.983 26 | 0.21  | 0.22  |
| 4 000.00 ~ 8 697.39    | 0.974 06 | 0.26  | 0.26  |
| 6 253.17 ~ 8 697.39    | 0.985 78 | 0.19  | 0.66  |

SNV + Second Derivative + ND 光谱预处理方法处理后得到的近红外光谱见图 2。

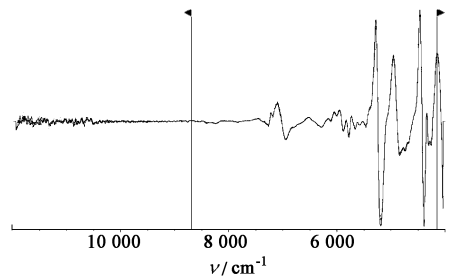


图 2 预处理后的近红外光谱

Fig. 2 Near-infrared spectra after pretreatment

**2.3.4 主因子数的选择** 在建模过程中,采用不同的主因子数,模型的预测能力不同,会有较大的差异,在校正集样本固定的情况下,主因子数太少,建模信息不全,预测能力低;主因子数太多,模型过于复杂,校正过程会出现过拟合现象<sup>[10]</sup>。采用内部交叉验证考察主因子数对内部交叉验证均方差 (RESECV) 的影响, RESECV 随主因子数变化的曲线见图 3, RMSECV 越小越好,当主因子数为 11 时 RMSECV 最小,为最佳建模主因子数。

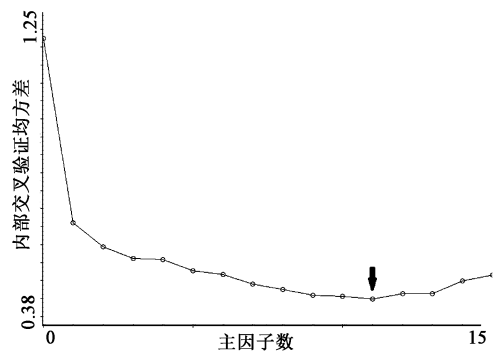


图 3 主因子数对 RMSECV 的影响

Fig. 3 Effect of the main factor number on the RMSECV

**2.4 模型的建立** 98 份样品运用 TQ Analyst 8.0 分析软件,采用 SNV + Second Derivative + ND 预处理方法,在光谱范围 4 161.63 ~ 8 697.39  $\text{cm}^{-1}$ ,建模主因子数 11,用校正集样品进行内部验证, $R^2$  为 0.983 26, RMSEC 为 0.21, RMSEP 为 0.22,预测值与真实值相关见图 4,预测值与真实值相关性较高。预测值与真实值的偏差见图 5,可以看出预测值与真实值很接近,模型性能较好。

**2.5 模型的验证** 将 18 份验证集样品的近红外光谱图输入校正模型,预测其水浸出物含量,并与其真实值进行比较,结果见表 5。平均相对偏差为 0.09%,在误差范围之内,可以看出定量分析模型的

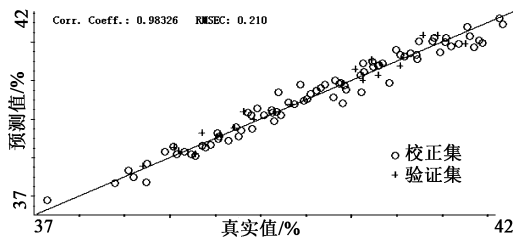


图4 预测值与真实值的相关

Fig. 4 Correlation diagram between prediction values and reference values

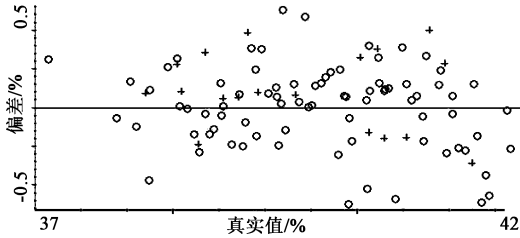


图5 预测值与真实值偏差

Fig. 5 Deviation diagram of predicted values and reference values

表5 筋骨痛消丸的近红外定量模型预测值

Table 5 Prediction values of Jingtongxia pills detected by near-infrared quantitative model

| 样品编号 | 真实值   | 预测值   | 相对偏差  |
|------|-------|-------|-------|
| 6    | 38.55 | 38.59 | 0.04  |
| 14   | 37.71 | 37.78 | 0.07  |
| 15   | 38.09 | 38.17 | 0.08  |
| 16   | 38.28 | 38.08 | -0.19 |
| 21   | 38.35 | 38.64 | 0.28  |
| 28   | 39.33 | 39.40 | 0.07  |
| 33   | 38.92 | 39.00 | 0.08  |
| 40   | 40.30 | 40.14 | -0.16 |
| 50   | 41.25 | 40.96 | -0.29 |
| 54   | 40.22 | 40.52 | 0.30  |
| 71   | 40.04 | 40.30 | 0.26  |
| 72   | 40.54 | 40.38 | -0.16 |
| 74   | 40.95 | 41.18 | 0.23  |
| 76   | 40.78 | 41.18 | 0.40  |
| 81   | 40.13 | 40.00 | -0.13 |
| 94   | 38.05 | 38.27 | 0.22  |
| 95   | 38.71 | 38.76 | 0.05  |
| 98   | 38.81 | 39.20 | 0.39  |

建立是成功的,预测结果较为准确。

**2.6 相关性分析** 将18份验证集样本的预测值和真实值做相关性分析。 $R^2$ 为0.9663, RMSEP仅为

0.22,相关度较高,预测值与真实值比较吻合,说明该模型的预测能力较好。

### 3 讨论

本试验为筋骨痛消丸的水溶性浸出物的含量测定提供了方法。同时结合了近红外光谱分析技术,利用近红外光谱技术简便快速准确的优点,提高了工作效率。

本实验所用的98份筋骨痛消丸样品,样品覆盖范围比较广,具有一定的代表性,可以反映出该制剂的质量情况,所建立的近红外定量分析模型具实用性。

筋骨痛消丸中水溶性浸出物近红外定量分析模型的成功建立,说明可以利用近红外技术对该制剂生产的各个环节的中间产物建立模型,从而实现在线监测,在提高生产效率的同时还能确保药品质量,将其应用于药厂生产会有非常巨大的意义,可加快中药生产的现代化进程。

#### [参考文献]

- [1] 杜志谦,刘淑芝,赵新杰,等. 筋骨痛消颗粒提取工艺研究[J]. 中国中药杂志, 2006, 31(24): 2083-2085.
- [2] 赵新杰,王苏静,夏华玲,等. 筋骨痛消丸质量标准的改进[J]. 中国药品标准, 2009, 10(3): 230-233.
- [3] 白雁,段小彦,雷敬卫,等. 近红外漫反射光谱法在青翘含量测定中的应用[J]. 中国实验方剂学杂志, 2013, 19(23): 111-114.
- [4] 杨武军,刘雪峰. 反相高效液相色谱法测定筋骨痛消丸中丹参酮II<sub>A</sub>的含量[J]. 现代医药卫生, 2009, 25(12): 1787-1788.
- [5] 张爱军,戴宁,赵国磊. 丹参产业化提取中近红外在线检测技术的研究[J]. 中草药, 2010, 41(2): 238-240.
- [6] 国家食品药品监督管理局国家药品标准(修订)颁布件批号 ZGB2009-19[J]. 中国药品标准, 2010, 11(4): 315-317
- [7] 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: 70.
- [8] 张军,郑咏梅,王芳荣,等. 谷物近红外光谱分析中常用数据处理方法讨论[J]. 吉林大学学报:信息科学版, 2003, 21(1): 4-9.
- [9] 蔡佳良,郭念欣,黄洁燕,等. 运用近红外光谱法建立广藿香中百秋李醇的定量模型[J]. 中国中药杂志, 2012, 37(14): 2113-2116.
- [10] 龚海燕,胡亚楠,谢彩侠,等. 近红外漫反射光谱法快速测定山茱萸水分含量[J]. 中国实验方剂学杂志, 2013, 19(23): 115-118.

[责任编辑 顾雪竹]