

# NIRS 快速测定制何首乌中的水分

贾灿潮, 卢慧娟, 姬生国\*

(广东药学院 中药学院, 广州 510006)

**[摘要]** 目的:建立利用近红外光谱技术快速测定制何首乌中水分的方法。方法:烘干法测定135批制何首乌中的水分,采用标准归一化法,二阶导数法对近红外光谱进行预处理,结合偏最小二乘法建立何首乌中水分的定量分析模型。结果:所建立的模型,内部交叉验证系数达到0.990 71,校正均方差为0.152,预测均方差为0.175,内部交叉验证均方差为0.482 57。结论:该方法方便、准确、可靠、重复性好,可快速测定制何首乌中的水分。

**[关键词]** 制何首乌;水分;近红外光谱

**[中图分类号]** [文献标识码] A [文章编号] 1005-9903(2015)16-0052-04

**[doi]** 10.13422/j.cnki.syfjx.2015160052

**Rapid Determination of Moisture Content in Polygoni Multiflori Radix Praeparata by Near Infrared Spectroscopy** JIA Can-chao, LU Hui-juan, JI Sheng-guo\* (School of Traditional Chinese Medicine, Guangdong Pharmaceutical University, Guangzhou 510006, China)

**[Abstract]** **Objective:** To establish a method for determination of the moisture in Polygoni Multiflori Radix Praeparata by near-infrared spectroscopy (NIRS). **Method:** The moisture content of 135 samples was determined by the method of drying under oven. The second derivative and the standard normal variate (SNV) were used as spectral preprocessing options, and calibration model of moisture content was established by the partial least squares regression analysis. **Result:** The correlation coefficients, the root-mean-square error of calibration, the root-mean-square error of predication and the root-mean-square error of cross-validation of the calibration model for moisture content were 0.990 71, 0.152, 0.175 and 0.482 57. **Conclusion:** The method is convenient, accurate, reliable and it is of high reproducibility and can predict moisture content of Polygoni Multiflori Radix Praeparata rapidly.

**[Key words]** Polygoni Multiflori Radix praeparata; moisture content; NIRS

水分是衡量中药饮片质量的重要指标之一,水分过高不仅影响中药饮片的有效成分含量,还会引起发霉、生虫等变质情况,影响中药的质量。《中国药典》2010年版对中药材以及中药饮片的水分作了严格的规定,其中,制何首乌的水分不得高于12.0%<sup>[1]</sup>。中药材在采收,加工,炮制,贮藏过程中都会引起水分含量的差异。传统的水分测定方法多为烘干法,该方法操作繁琐,耗时,且易受环境,仪器设备等因素的影响。近红外光谱技术作为快速检测的一门技术,已广泛应用于化工,食品,烟酒等行业<sup>[2-5]</sup>。近年来,由化学计量学结合近红外光谱技

术在中药质量评价中的应用得以实现<sup>[6-8]</sup>。本课题组已成功将该技术应用于广藿香、广金钱草、高良姜、巴戟天等中药材的水分<sup>[9-15]</sup>。本文就该技术应用于制何首乌中水分方法的建立进行介绍。

## 1 材料

**1.1 药材** 2014年4月到10月间分别于广东、广西、四川、湖南、河南、湖北等地采购,共135批,经广东药学院中药学院姬生国教授鉴定为蓼科植物何首乌 *Polygonum multiflorum* 的干燥块根炮制加工品。样品粉碎过四号筛,保存至密封袋中,置干燥器备用。

**[收稿日期]** 20150116(013)

**[基金项目]** 广东省科技计划项目(2009B030801044)

**[第一作者]** 贾灿潮,在读硕士,从事中药质量控制研究, Tel:020-39352327, E-mail:837127578@qq.com

**[通讯作者]** \* 姬生国,博士,教授,从事中药资源、中药质量标准及中药新药、分子生药学研究, Tel:020-39352327, E-mail:shengguo\_ji@163.com

**1.2 仪器** Nicolet 6700 型傅里叶变换近红外光谱仪,配有漫反射积分球、样品旋转器和石英样品杯、OMNIC 光谱采集软件和 TQ8.0 分析软件(美国 Thermo 公司);Q/ZT153-1 998 型电热鼓风恒温干燥器(浙江正泰仪器仪表有限公司);AY120 型 1/10 万分析天平(日本岛津公司)。

**2 方法和结果**

**2.1 水分测定** 按照 2010 年版《中国药典》制何首乌水分测定项下烘干法测定,135 批制何首乌水分,135 批样品水分在 7.17% ~ 11.39%,且分布均匀。

**2.2 近红外光谱的采集** 取样品粉末 4 g,混合均匀后放入石英样品杯,轻轻振摇使其分布均匀。采用积分球漫反射测样,分辨率为 8 cm<sup>-1</sup>,扫描 64 次,扫描范围为 12 000 ~ 4 000 cm<sup>-1</sup>,温度(23 ± 0.5)℃;相对湿度 20% ~ 35%。每批样品扫描 5 次,求平均光谱。样品的近红外光谱叠加图见图 1。

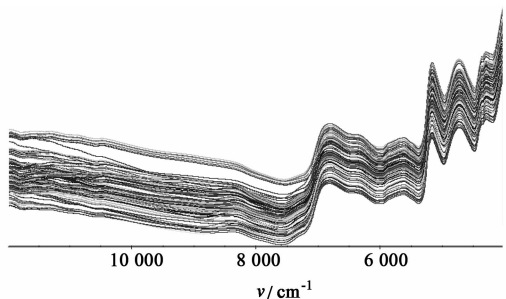


图 1 135 批制何首乌样品的近红外平均光谱叠加  
Fig.1 NIR overlay spectra of 135 samples of Polygoni Multiflori Radix praeparata

**2.3 光谱预处理**<sup>[16]</sup> 光谱预处理方法常用无处理(Constant),多元散射校正法(Multiplicative single correction, MSC),标准归一化法(Standard normal variate, SNV),一阶导数法(First derivative),二阶导数法(Second derivative)。以内部交叉验证决定系数( $R^2$ ),校正均方差(Root-mean-square error of calibration, RMSEC),预测均方差(Root-mean-square error of prediction, RMSEP)为综合指标考察。当  $R^2$  越接近 1 时,样品分析值与近红外预测值相关性越好;RMSEC 和 RMSEP 越小,且 RMSEP/RMSEC ≤ 1.2 时,模型预测性能越好<sup>[17]</sup>。根据结果(见表 1),在选择二阶导数法对光谱进行预处理时,RMSEP 和 RMSEC 的比值差异较小,但  $R^2$  略低于本文选择方法,故本研究选择标准归一化法和二阶导数法相结合的法对光谱进行处理。

**2.4 建模波长范围的选择** 该方法结合校正集内

表 1 不同预处理方法对模型的影响

Table 1 Different pretreatment to the effect of the model

光谱预处理方法	$R^2$	RMSEC	RMSEP	RMSEP /RMSEC
Constant(无)	0.921 92	0.432	0.390	0.90
MSC(多元散射校正)	0.964 86	0.293	0.330	1.13
SNV(标准归一化)	0.963 23	0.299	0.314	1.05
First derivative(一阶导数)	0.989 35	0.162	0.249	1.54
Second derivative(二阶导数)	0.978 64	0.229	0.218	0.95
MSC + First derivative	0.988 52	0.168	0.228	1.36
SNV + First derivative	0.988 53	0.168	0.221	1.31
MSC + Second derivative	0.989 52	0.161	0.164	1.02
SNV + Second derivative	0.990 71	0.152	0.175	1.16

部交叉验证决定系数  $R^2$  越接近 1, RMSEC 越小, RMSEP 越小, RMSEP/RMSEC < 1.2 的指标考察不同波段对模型的影响。通过对比分析<sup>[18]</sup>,当选取波段为 4 196.34 ~ 5 230 cm<sup>-1</sup> 和 6 201 ~ 6 990 cm<sup>-1</sup> 时,  $R^2$  值最大, RMSEC 和 RMSEP 最小,且 RMSEP/RMSEC = 1.16 < 1.20, 选取该波段建立的模型较为精确故最终选取建模波段为 4 196.34 ~ 5 230 cm<sup>-1</sup> 和 6 201 ~ 6 990 cm<sup>-1</sup>, 见表 2。

表 2 不同建模区间对模型的影响

Table 2 Effect of different wavelength on to the model

建模区间/cm <sup>-1</sup>	$R^2$	RMSEC	RMSEP	RMSEP /RMSEC
4 000 ~ 7 880	0.959 99	0.312	0.302	0.97
4 200 ~ 6 990	0.926 11	0.421	0.410	0.97
4 196.34 ~ 5 230, 6 201 ~ 6 990	0.990 71	0.152	0.175	1.16
4 680 ~ 5 230, 6 568 ~ 7 100	0.950 32	0.347	0.345	0.99
4 320 ~ 5 200, 6 340 ~ 6 980	0.972 63	0.259	0.206	0.79

**2.5 主因子数的选定** 在主成分回归(包括偏最小二乘法)中,确定参与回归的最佳主成分数(也称为主因子数)尤为重要。选取主因子数过小,则会丢失过多有用信息,出现欠拟合;选取主因子数(Factor)过大,则会将测量噪音过多地引入模型,出现过拟合<sup>[17]</sup>。本实验选用校正集内部交叉验证均方差(Root-mean-square root of cross validation, RMSECV)作为优化参数,其值越小,模型质量较好,预测精度高,当其值最小时,所对应的主因子数为最佳主因子数。本实验在光谱预处理和波段选择后,得到 RMSECV 最小值为 0.482 57, 对应最佳主因子数为 7, 见图 2。

**2.6 验证模型的建立** 运用 TQ8.0 定量分析软件

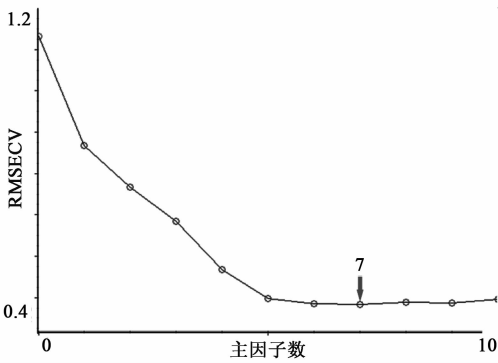


图 2 校正集内部交叉验证均方差随主因子数的变化  
Fig. 2 Change of RMSECV along with the factors

中的偏最小二乘法,选取 107 批样品为校正集,采用标准化归一法和二阶导数法进行预处理,选取 4 196.34 ~ 5 230  $\text{cm}^{-1}$  和 6 201 ~ 6 990  $\text{cm}^{-1}$  波段,以最佳主因子数为 7 建立了校正模型。所建立的模型,内部交叉验证决定系数  $R^2 = 0.990 71$ ,  $\text{RMSEC} = 0.152$ ,  $\text{RMSEP} = 0.175$ ,  $\text{RMSEP}/\text{RMSEC} = 1.16 < 1.20$ ,  $\text{RMSECV} = 0.482 57$ ,以上指标均符合近红外光谱模型的要求,说明该模型质量较好,准确,可靠。结果见图 3,4。图 3 中,校正集样品均匀分布在回归线的两侧;图 4 中,近红外光谱技术预测值与参考值的绝对偏差在  $\pm 0.4$ 。

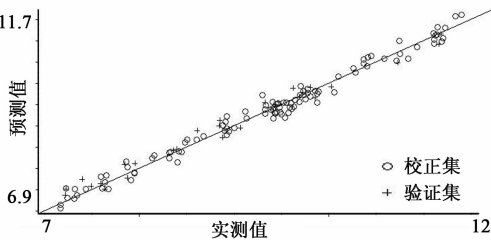


图 3 校正集样品交叉验证所得的近红外光谱技术预测值与参考值的相关  
Fig. 3 Relationship between true values and predictive values of the calibration samples

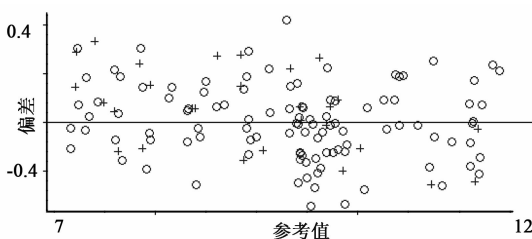


图 4 样品的近红外光谱技术预测值与参考值的绝对偏差  
Fig. 4 Chart of the absolute deviation between predictive values and true values of the samples

2.7 校正模型的验证 取校正集以外的 28 批样品对模型进行验证,结果见表 3,验证集的实测值与预

测值的绝对偏差在  $-0.26\% \sim 0.33\%$ ,平均回收率为 100.69%,预测值接近实测值。以验证集标准偏差除以预测标准偏差作相对分析误差 (RPD) 得:  $\text{RPD} = 6.61 > 5$ ,模型结果可以接受。以 28 个验证集样品的预测值与实测值进行了配对双边  $t$  检验,有  $t = 0.132$ ,有  $t_{0.05,27} = 0.684 > 0.132$ ,即  $P > 0.05$ ,说明近红外光谱方法测定值与实测值无显著差异,测定制何首乌的近红外光谱法与烘干法间不存在系统误差<sup>[19]</sup>。综上所述可知,该模型可快速,准确测定制何首乌水分。

表 3 验证集样品水分的预测

Table 3 Result of the validation samples %

编号	实测值	预测值	绝对偏差
1	8.61	8.88	0.28
2	8.85	9.12	0.27
3	8.85	8.99	0.14
4	9.06	8.95	-0.11
5	9.33	9.55	0.22
6	9.73	9.79	0.06
7	11.19	11.16	-0.02
8	11.16	10.91	-0.03
9	9.43	9.50	0.07
10	9.81	9.90	0.09
11	9.86	9.65	-0.21
12	10.73	10.47	-0.26
13	10.03	9.92	-0.11
14	8.88	8.72	-0.16
15	7.85	8.09	0.24
16	7.95	8.10	0.15
17	7.88	7.77	-0.11
18	7.23	7.51	0.28
19	7.22	7.36	0.14
20	7.40	7.73	0.33
21	7.50	7.58	0.07
22	7.63	7.51	-0.12
23	7.60	7.64	0.05
24	9.69	9.67	-0.02
25	9.62	9.88	0.26
26	8.36	8.42	0.06
27	8.40	8.45	0.05
28	9.44	9.45	0.01

## 2.8 模型的方法学考察

2.8.1 精密度考察 取同一批样品,采集 6 次光谱数据,将数据输入模型,求出水分,6 次测定结果的 RSD 为 1.8%。

2.8.2 重复性考察 取同一批样品 6 份,分别采集

其光谱数据,将数据输入模型,求出水分,6次测定结果的RSD为1.16%。

### 3 讨论

《中国药典》2010年版关于水分的测定方法有烘干法、甲苯法、减压干燥法。这些方法操作较繁琐,影响因素较多。本文建立的近红外光谱法测定制何首乌中的水分,通过采集近红外光谱数据,利用化学计量学方法处理,并经过验证,该方法快速、准确、方便,可用于制何首乌中的水分测定。

中药材中化学成分复杂,且由于样品颗粒大小,颜色的差别以及杂散光等影响,采集近红外光谱数据,为所有成分的光谱信号信息,会造成近红外光谱原始谱图吸收峰重叠严重,图构关系不明显,因此,必须对原始光谱进行预处理,以消除基线漂移和噪音,提取有效信息,增加光谱的重复性。

近红外光是波数为 $12\ 000\sim 4\ 000\text{ cm}^{-1}$ 的电磁波,该波段包含大量冗余的信息。在建立近红外光谱模型时,须选择相关波段,消除无关干扰,增加近红外光谱与含量的关系,提高模型预测的准确性。水分子中的O-H键的特征波长分别为 $6\ 944\text{ cm}^{-1}$ 的一级倍频吸收带和 $5\ 155\text{ cm}^{-1}$ 的合频吸收带,两特征波长主要包含药材中水分的相关信息,以这两个特征谱带为参考,筛选合理波段,去除无关波段的干扰,提取特征值,使模型得以优化。

在模型建立后,需要用验证集对模型进行验证。验证模型常以 $t$ 检验、内部交叉验证决定系数( $R^2$ ),预测均方差RMSECP,验证集标准偏差与预测标准偏差的比值RPD等综合考究模型的准确性。其中, $R^2$ 越接近1时,样品分析值与近红外预测值相关性越好;RMSEP越小,预测结果越精确;在浓度范围相同下,RPD越大,精确度越高,当 $RPD > 5$ ,说明模型预测结果可以接受, $RPD > 8$ ,模型预测准确性很高;给定某一显著水平,如通过 $t$ 检验,说明光谱方法与参考方法不存在系统误差。

#### [参考文献]

[1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 二部[S]. 北京:中国医药科技出版社,2010:附录52.  
[2] 吴玉萍,夏振远,邵岩,等. 近红外光谱法快速检测烟草中部分香气物的应用研究[J]. 分析试验室,2007,26(3):73-74.  
[3] 袁洪福,岳俊奇,陆婉珍. CCD近红外光谱快速测定喷气燃料的冰点[J]. 分析化学,1998,26(5):

603-606.

[4] 张志勇,李刚,刘海学,等. 近红外漫反射光谱法检测小麦粉过氧化苯甲酰[J]. 光谱学与光谱分析,2011,31(12):3260-3263.  
[5] 谢广发,徐榕,樊阿萍,等. 近红外光谱技术在黄酒理化指标快速检测中的应用[J]. 中国酿造,2011(11):182-185.  
[6] 郭念欣,蔡佳良,姬生国,等. 运用近红外技术建立藿香正气胶囊中厚朴酚的定量模型[J]. 中国实验方剂学杂志,2013,19(8):146-149.  
[7] 李蕾蕾,王海霞,林萍,等. 近红外光谱技术在枇杷叶水分含量测定中的应用[J]. 中国实验方剂学杂志,2013,19(19):104-107.  
[8] 雷敬卫,樊明月,白雁,等. 近红外光谱法结合PLS快速测定木香药材中水分的含量[J]. 中国实验方剂学杂志,2014,20(15):82-85.  
[9] 蔡佳良,黄洁燕,姬生国,等. 运用近红外光谱法建立广藿香含叶量定量分析模型[J]. 中国现代应用药学,2013,30(3):260-263.  
[10] 蔡佳良,李蕾蕾,姬生国. 近红外光谱法快速测定广藿香中水分含量[J]. 医药导报,2012,31(11):1468-1470.  
[11] 蔡佳良,黄洁燕,姬生国,等. 近红外光谱法快速测定广藿香中醇溶性浸出物含量[J]. 中国药学杂志,2012,47(24):2026-2028.  
[12] 王海霞,周文婷,姬生国,等. NIRS在广金钱草水分含量测定中的应用[J]. 江苏农业科学,2014,42(7):324-326.  
[13] 林萍,周文婷,姬生国,等. 高良姜中高良姜素含量NIRS分析模型的构建[J]. 计算机与应用化学,2014,31(5):632-636.  
[14] 林萍,王海霞,姬生国,等. 利用近红外光谱分析技术快速测定高良姜中水分含量[J]. 中国调味品,2014,39(8):99-103.  
[15] 周文婷,王海霞,姬生国,等. 巴戟天水溶性浸出物近红外光谱测定方法的建立[J]. 计算机与应用化学,2014,31(6):709-712.  
[16] 王海敏,李玮,赵建龙. 近红外漫反射光谱法无损快速测定头孢丙烯原料药中的水分[J]. 安徽医学,2012,16(1):1777-1779.  
[17] 褚小立. 化学计量学方法与分子光谱分析技术[M]. 北京:化学工业出版社,2011:31-119.  
[18] 严衍禄,赵龙莲,韩东海,等. 近红外光谱分析基础与应用[M]. 北京:中国轻工业出版社,2005:31-37.  
[19] 孙振球,徐勇勇. 医学统计学[M]. 北京:人民卫生出版社,2008:44-48.

[责任编辑 顾雪竹]