

# 近红外光谱技术快速测定夏枯草中水溶性浸出物的含量

卢慧娟, 贾灿潮, 曹庆玺, 姬生国\*  
(广东药学院 中药学院, 广州 510006)

**[摘要]** 目的:建立夏枯草中水溶性浸出物含量的近红外光谱定量分析模型。方法:采用热浸法测定180批夏枯草中浸出物的含量;采集样品的近红外光谱数据,利用TQ8.0软件建立浸出物的定量分析模型。结果:所建立的近红外光谱定量分析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0.9814,0.347,0.378,验证集NIR预测值与热浸法参考值的 $t$ 检验值为0.653,双侧 $P=0.517>0.05$ ,说明差异无统计学意义。结论:建立的近红外光谱法测定夏枯草中浸出物的含量测定方法准确、可靠,可用于夏枯草中浸出物的含量测定。

**[关键词]** 夏枯草;水溶性浸出物;近红外光谱法

**[中图分类号]** R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2016)02-0043-05

**[doi]** 10.13422/j.cnki.syfjx.2016020043

## Content Determination of Water-soluble Extract in *Prunellae Spica* by Near-infrared Spectroscopy

LU Hui-juan, JIA Can-chao, CAO Qing-xi, JI Sheng-guo\*

(School of Traditional Chinese Medicine, Guangdong Pharmaceutical University, Guangzhou 510006, China)

**[Abstract]** **Objective:** To develop near-infrared spectroscopy (NIR) quantitative analysis model for water-soluble extract in *Prunellae Spica*. **Method:** The extract content of *Prunellae Spica* in 180 batches was determined by hot dipping method. NIRS spectrograms were measured, and the quantitative analysis model for extract was established by TQ8.0 software. **Result:** The correlation cross-validation coefficients ( $R^2$ ), root-mean-square error of calibration (RMSEC) and root-mean-square error of prediction (RMSEP) of the quantitative calibration model for water extract were 0.9814, 0.347 and 0.378 respectively, and the test value of NIR prediction values and the reference values of the validation set was 0.653, bilateral  $P=0.517>0.05$ , implying the difference was not significant. **Conclusion:** The method is steady, accurate and reliable to predict the water extracts content of *Prunellae Spica* by NIR.

**[Key words]** *Prunellae Spica*; water extracts; NIR spectroscopy

夏枯草具有清肝泻火、明目、消结散肿之功效,用于治疗目赤肿痛、目珠夜痛、头痛眩晕、癭瘤、乳痛、乳癖、乳房胀痛等<sup>[1]</sup>。水溶性浸出物的含量是控制药材质量的重要指标之一,关系着药材的出膏率,反映了药材的整体质量<sup>[2]</sup>。《中国药典》2015年版夏枯草项下规定采用热浸法测定其浸出物的含量。近红外光谱分析技术具有无需前处理、检测速

度快、不破坏样本、不使用溶剂等特点,本试验以此为出发点,将近红外技术与化学计量学相结合,建立了夏枯草药材水溶性浸出物含量测定方法,为夏枯草药材的质量评价提供新的途径。

### 1 材料

Nicolet 6700型傅立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

**[收稿日期]** 20150323(009)

**[基金项目]** 广东省科技计划项目(2009B030801044)

**[第一作者]** 卢慧娟,在读硕士,从事生药活性成分与质量评价研究,E-mail:luzhi0315@163.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研究,Tel:020-39352173,E-mail:shengguo\_ji@163.com

光谱采集软件和 TQ8.0 分析软件,美国 Thermo)。

夏枯草样品于 2014 年分别采集于河南、安徽、湖北等地,共采集 180 批,经广东药学院姬生国教授鉴定为唇形科植物夏枯草 *Prunella vulgaris* 的干燥果穗。药材经干燥粉碎后过 24 目筛,保存于自封袋中,置于干燥器中备用。

## 2 方法与结果

**2.1 浸出物含量的测定方法** 按照《中国药典》2010 年版一部附录 X A 项下热浸法测定,结果所有夏枯草样品中浸出物含量在 10.25% ~ 19.17%,分布均匀,符合规定。

**2.2 近红外光谱的采集** 取夏枯草样品粉末 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 8 cm<sup>-1</sup>,扫描 64 次,扫描范围 12 000 ~ 4 000 cm<sup>-1</sup>,温度 (25 ± 2) °C,相对湿度 15% ~ 20%。每批样品重复装样并扫描 5 次,求平均光谱。180 批样品的近红外光谱叠加图见图 1。

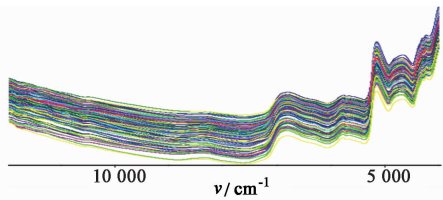


图 1 180 批样品的近红外光谱叠加

Fig.1 NIR Spectra of 180 batches of samples

## 2.3 近红外定量分析模型的建立

**2.3.1 校正集与验证集的选择** 将 180 批夏枯草样品按照浸出物含量从低到高排列,均匀的选择其中 134 批具有代表性的样品组成校正集,其余 46 批样品为验证集,验证集样品含量范围处于校正集样品含量范围之内<sup>[3]</sup>。校正集和验证集样品浸出物含量的描述统计见表 1。

表 1 校正集与验证集夏枯草浸出物含量的描述统计

Table 1 Descriptive statistic of water extraction of Prunellae Spica in calibration and validation set

组成	样品数 /批	最大值 /%	最小值 /%	平均值 /%	标准差
校正集	134	19.166 2	10.249 0	14.729 7	1.818 2
验证集	46	18.376 3	10.849 5	14.678 3	1.823 4

**2.3.2 光谱预处理** 近红外透射光谱的采集过程中,环境的变化(如温度,湿度等)会引起光谱基线的偏移,随机噪声和样品背景干扰等都会对校正结果产生影响<sup>[4-5]</sup>。因此,需要对光谱进行预处理。

采用软件 TQ8.0 对样品光谱进行预处理<sup>[6]</sup>。不同光谱预处理对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)的影响见表 2。其中, $R^2$ 越接近 1,说明热浸法参考值与近红外预测值相关性越好;在满足 RMSEP/RMSEC ≤ 1.2 的条件下, RMSEC 和 RMSEP 越小,说明模型的预测性能越好<sup>[7]</sup>。由结果可知最佳的预处理方法是一阶导数法。

表 2 不同预处理方法对模型参数的影响

Table 2 Influence of different pretreatment methods on parameters of model

光谱预处理方法	$R^2$	RMSEC	RMSEP	RMSEP/ RMSEC
Constant(无)	0.953 2	0.548	0.429	0.783
SNV(标准归一化法)	0.951 7	0.556	0.473	0.851
MSC(多元校正散射)	0.952 6	0.551	0.454	0.824
First derivative(一阶导)	0.981 4	0.347	0.378	1.089
Second derivative(二阶导)	0.990 3	0.252	0.726	2.881
First derivative(一阶导) + S-G 平滑	0.979 6	0.364	0.367	1.008
First derivative(一阶导) + N-D 平滑	0.951 3	0.559	0.484	0.866

**2.3.3 建模区间的选择**<sup>[8]</sup> 以  $R^2$ , RMSEC, RMSEP 为指标考察不同建模区间对模型参数的影响,确定最佳建模区间为 4 007.35 ~ 7 594.30 cm<sup>-1</sup>,结果见表 3。

表 3 不同波段对模型的影响

Table 3 Influence of spectra wavelength on model

建模区间/cm <sup>-1</sup>	$R^2$	RMSEC	RMSEP	RMSEP/ RMSEC
4 007.35 ~ 10 004.90	0.953 7	0.545	0.573	1.051
4 007.35 ~ 8 691.01	0.967 6	0.457	0.399	0.873
4 007.35 ~ 7 408.03	0.981 2	0.349	0.368	1.054
4 007.35 ~ 7 594.30	0.981 4	0.347	0.378	1.089
4 208.32 ~ 7 594.30	0.981 2	0.350	0.380	1.086
4 401.58 ~ 7 594.30	0.961 2	0.500	0.459	0.918

**2.3.4 主因子数的选择**<sup>[9]</sup> 本研究以内部交叉验证均方差(Root-mean-square root of crossvalidation, RMSECV)为指标, RMSECV 越小,模型预测偏差越小, RMSECV 最小时所对应的便是最佳选主因子数。本实验 RMSECV 最小值为 0.575 4,对应的最佳主因子数为 11。

**2.3.5 校正模型的建立** 经不同处理方法验证,夏

枯草浸出物含量测定的最佳光谱预处理方法为一阶导数法,且光谱范围 4 007.35 ~ 7 594.30  $\text{cm}^{-1}$ ,模型的  $R^2$  为 0.981 4, RMSEC 为 0.347, RMSEP 为 0.378, RMSEP/RMSEC = 1.089, 小于 1.2, 说明模型预测性能稳定;主成分数为 11, RMSECV 为 0.575 4, 说明模型稳健;校正集和预测集的 NIR 预测值与热浸法参考值之间的绝对偏差在  $\pm 0.9\%$ , 说明该模型预测的准确性较好。NIR 预测值与参考值的相关性见图 2, 差异性见图 3。

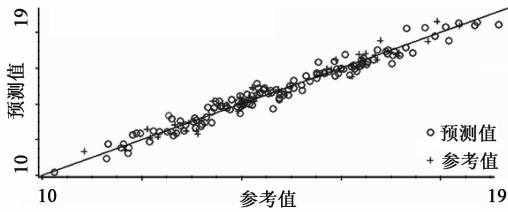


图 2 180 批夏枯草样品参考值与预测值的相关  
Fig. 2 Relationship between reference and predictive values of 180 Prunellae Spica Fructus samples

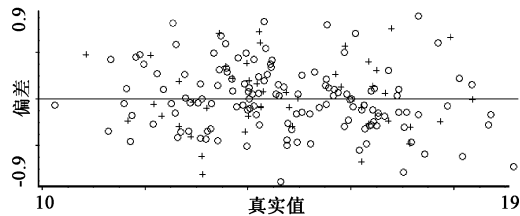


图 3 NIR 预测值与参考值的偏差  
Fig. 3 Different between measured values and predictive values by NIR

**2.4 模型的验证** 模型的验证,就是用优化后的校正模型对 46 批验证集样品进行测定,见表 4。结果可见,平均预测回收率为 100.26%,说明 NIR 预测值与热浸法参考值基本一致;模型预测结果绝对偏差在  $\pm 0.9\%$  以内,且只有一个样品的绝对偏差大于 0.8%,平均相对误差为 0.3%,说明该模型准确性良好。并对 46 个验证集样品的两种分析值进行配对双边  $t$  检验,结果显示  $t$  检验值为 0.653, 双侧  $P = 0.517 > 0.05$ , 参考值与预测值不存在显著性差异,说明所建近红外模型具有较好的预测效果。验证集参考值与预测值绝对偏差分布见图 4。

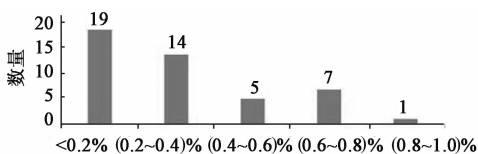


图 4 46 批验证集 NIR 预测结果偏差分布  
Fig. 4 NIR predictive values deviation of 46 batches of validation set

表 4 46 批验证集样品的平均预测回收率

Table 4 Average recoveries of 46 batches of validation set %			
No.	实测值	预测值	绝对偏差
1	14.01	13.82	-0.19
2	13.44	14.15	0.71
3	18.38	18.37	-0.01
4	17.94	18.60	0.66
5	17.74	17.49	-0.25
6	14.74	14.81	0.07
7	13.98	14.36	0.38
8	14.18	14.34	0.16
9	14.26	14.18	-0.08
10	14.02	14.22	0.20
11	14.22	14.94	0.72
12	14.97	14.97	0.00
13	12.33	12.15	-0.18
14	12.11	12.57	0.46
15	17.16	16.86	-0.30
16	16.73	16.49	-0.24
17	13.20	13.10	-0.10
18	13.95	13.59	-0.36
19	11.67	11.43	-0.24
20	10.85	11.32	0.47
21	14.81	14.72	-0.09
22	14.86	14.56	-0.03
23	14.23	14.83	0.60
24	14.30	14.37	0.07
25	16.50	16.81	0.31
26	15.81	15.93	0.12
27	12.66	12.36	-0.29
28	12.89	12.48	-0.41
29	12.18	12.12	-0.06
30	12.94	12.91	-0.03
31	13.10	12.49	-0.61
32	12.66	12.84	0.18
33	16.22	16.13	-0.09
34	16.22	15.55	-0.67
35	16.68	16.74	0.06
36	15.90	16.46	0.56
37	16.42	16.56	0.14
38	13.12	12.31	-0.81
39	14.25	14.16	-0.09
40	13.57	13.92	0.35
41	13.71	13.93	0.22
42	16.79	17.54	0.75
43	17.15	16.67	-0.48
44	16.36	16.75	0.40
45	15.71	15.97	0.27
46	16.36	16.09	-0.27

**2.5 模型的评价** 模型的 RMSEC, RMSEP 和 RMSECV 分别为 0.347, 0.378 和 0.575, 初步评价模型预测能力较好, 准确度高, 除此之外, 还可以通过相对分析误差值 (Ratio of standard deviation and standard error of prediction, RPD) 对模型进行进一步详细的评价。RPD 是验证集标准偏差与标准误差的比值, 当 RPD > 3 时, 说明定标效果良好, 建立的定标模型可以用于实际检测<sup>[10-12]</sup>, 本实验所建模型 RPD 为 4.823 7, 表明所建的近红外定量分析模型可以对未知夏枯草样品中浸出物含量进行准确预测。

**2.6 模型精密度考察**<sup>[13]</sup> 取同一份夏枯草药材粉末 4.0 g, 混合均匀, 在同一条件下重复 6 次采集其近红外图谱, 将其输入模型计算, 测得其平均值为 15.617 8%, RSD 1.1%, 表明模型精密度良好。

**2.7 模型重复性评价** 取同一批次夏枯草样品粉末 6 份, 每份 4.0 g, 混合均匀后放入石英杯, 轻轻震摇使其分布均匀, 分别采集其近红外图谱, 并输入模型, 测得其平均值 18.60%, RSD 1.6%, 表明该模型重复性良好。

### 3 结论

本实验采用近红外软件 TQ8.0 建立夏枯草中浸出物含量的定量分析模型, 在选择预处理方法以及建模区间时, 以 ( $R^2$ ), RMSEC, RMSEP 为综合指标, 考察不同预处理方法及建模波段对模型参数的影响。最终确定采用一阶导数法对光谱预处理, 在 4 007.35 ~ 7 594.30  $\text{cm}^{-1}$  建模区间内, 选择前 11 个主成分建立最优校正模型。

通过对比不同预处理方式对模型的影响可知, 当预处理方法为二阶导时, 虽然  $R^2 = 0.990 3 > 0.981 4$ , 但  $\text{RMSEP}/\text{RMSEC} = 2.88 > 1.2$ , 故不采用该预处理方法。当对光谱进行一阶导数处理时,  $R^2 = 0.981 4$ ,  $\text{RMSEP}/\text{RMSEC} = 1.09 < 1.2$ , 故选取一阶导为最佳预处理方法; 对比不同建模波段对模型参数的影响可知, 当建模区间在 4 007.35 ~ 7 594.30  $\text{cm}^{-1}$  时,  $R^2$  最接近 1, 且  $\text{RMSEP}/\text{RMSEC} = 1.09 < 1.2$ 。

经过对模型进行评价和验证, 确定该模型准确可靠。利用所建模型对未知样品进行浸出物含量测定, 仅需采集样品近红外光谱输入模型计算即得, 与常规的分析方法相比, 可以节省大量的分析时间, 适

用于大批量夏枯草中浸出物含量的快速测定, 为夏枯草药材全面评价及快速、有效的质量控制方法提供参考。

### [参考文献]

- [1] 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, 2015: 263.
- [2] 白雁, 刘乐, 王东, 等. 近红外光谱对黄芩药材浸出物的快速测定[J]. 时珍国医国药, 2009, 20(5): 1081-1082.
- [3] 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]. 中国实验方剂学志, 2012, 18(6): 57-60.
- [4] 陆婉珍. 现代近红外光谱分析技术[M]. 2版. 北京: 中国石化出版社, 2006: 29-31.
- [5] 褚小立, 袁洪福, 陆婉珍. 近红外分析中光谱预处理及波长选择方法进展与应用[J]. 化学进展, 2004, 16(4): 528-542.
- [6] 严衍禄. 近红外光谱分析基础与应用[M]. 北京: 中国轻工业出版社, 2005: 98-99.
- [7] 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: 75-78.
- [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(19): 89-92.
- [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] 戴传云, 高晓燕, 汤波, 等. 近红外光谱法测定双黄连口服液中原绿原酸和连翘苷的含量[J]. 光谱学与光谱分析, 2010, 30(2): 358-362.
- [11] Joubert E, Manley M, Botha M. Use of NIRS for quantification of mangiferin and hesperidin contents of dried green honeybush (*Cyclopia genistoides*) plant material [J]. J Agr Food Chem, 2006, 54(15): 5279-5283.
- [12] 滑荣, 韩建国, 齐晓, 等. 近红外漫反射光谱法预测紫花苜蓿草颗粒营养价值[J]. 光谱学与光谱分析, 2008, 28(12): 2826-2829.
- [13] 周文婷, 王海霞, 林萍, 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.

[责任编辑 顾雪竹]