

近红外光谱法快速测定女贞子药材中水分含量

史晶晶, 张迪文, 白雁, 谢彩侠*, 胡小莉
(河南中医药大学, 郑州 450046)

[摘要] **目的:**采用近红外光谱技术(NIRS)结合偏最小二乘法(PLS)建立一种女贞子药材中水分含量快速环保的测定方法。**方法:**利用烘干法测定样品中水分含量,并以其作为参考值,运用近红外漫反射光谱技术采集女贞子的近红外漫反射光谱,结合 PLS 建立女贞子药材中水分含量的定量分析模型,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),内部交叉验证均方差(RMSECV)分别为 0.986 87,0.199,0.246 41;验证集预测相关系数(R^2)与预测均方差(RMSEP)分别为 0.956 6 和 0.220。**结论:**该方法操作简便,快速无污染,结果准确,可用于女贞子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; 女贞子; 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(2016)08-0092-04

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2016080092

Rapid Determination of Moisture Content in Ligustri Lucidi Fructus by Near Infrared Spectroscopy

SHI Jing-jing, ZHANG Di-wen, BAI Yan, XIE Cai-xia*, HU Xiao-li
(Henan University of Traditional Chinese Medicine, Zhengzhou 450046, China)

[Abstract] **Objective:** To establish a rapid and environmentally-friendly method to determine the moisture content in Ligustri Lucidi Fructus by using near infrared spectroscopy (NIRS) combined with partial least squares (PLS). **Method:** The reference values of water content in samples were obtained by oven-drying method, and the near infrared spectral data of the samples was collected by Nicolet 6700 NIR spectrograph. Then the quantitative analysis model of moisture content in Ligustri Lucidi Fructus was established by partial least square (PLS) and this model was validated by unknown samples. **Result:** The correlation coefficient of cross-validation (R^2) of the established quantitative model for moisture content was 0.986 87; the root-mean-square error of calibration (RMSEC) was 0.199; the root-mean-square error of cross-validation (RMSECV) was 0.246 41. The validation set prediction correlation coefficient (R^2) was 0.956 6, and the root-mean-square error of prediction (RMSEP) was 0.220. **Conclusion:** This method is simple, rapid, accurate, and non-polluting to determine the content of moisture in Ligustri Lucidi Fructus.

[Key words] near infrared spectroscopy; PLS; Ligustri Lucidi Fructus; moisture; rapid determination

女贞子是木犀科植物女贞的干燥成熟果实,具有滋补肝肾,明目乌发的疗效,临床上主要用于治疗眩晕耳鸣、腰膝酸软、须发早白等^[1]。水分含量是女贞子药材检验的一个常规检查项目,控制其水分

的含量与保证女贞子药材质量有着密切的关系^[2]。传统的女贞子水分测定方法为烘干法,该法操作复杂,耗时较长,污染较大且破坏样品。因此,寻找一种新的无化学污染、成本低、快速灵敏的水分测定法

[收稿日期] 20150313(013)

[基金项目] 河南省科技攻关计划项目(142102313109)

[第一作者] 史晶晶,讲师,从事中药质量评价研究,Tel:13526860891,E-mail:nanyangcex@126.com

[通讯作者] *谢彩侠,教授,研究生导师,从事中药质量控制研究,Tel:13673651577,E-mail:1210571736@qq.com

很有必要。

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^[3],目前已经陆续用于药效成分的含量测定、中药纯化过程分析、天然药物鉴别和药材的快速模式识别等^[4-6]。本试验将近红外光谱分析技术(NIRS)与偏最小二乘法(PLS)相结合^[7-9],建立女贞子药材中水分的定量分析模型,为女贞子药材中水分的含量测定提供一种环保无损且快速的方法。

1 材料

Nicolet 6700 型傅里叶变换近红外光谱仪(配有 InGaAs 检测器、外接积分球、样品旋转器、OMNIC 光谱采集软件和 TQ Analyst 8.0 分析软件,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),AL204 型 1/1 万分析天平(梅特勒-托利多仪器上海有限公司)。

试验样品为采购于四川、湖南、浙江、河南、湖北等地女贞子药材共 97 份,由河南中医学院董诚明教授鉴定为木犀科植物女贞 *Ligustrum lucidum* 的干燥成熟果实。

2 方法和结果

2.1 近红外光谱的采集 将 97 份样品粉碎过 40 目筛,取女贞子药材粉末约 5 g 装入石英杯,混合均匀,采用积分球漫反射,以空气为参比,扣除背景采集光谱图。采集参数为分辨率 8 cm⁻¹,光谱采集范围 12 000 ~ 4 000 cm⁻¹,扫描次数 64 次,每次扫描背景间隔 20 min。温度 25 ~ 28 ℃,相对湿度 17% ~ 20%。每份样品重复扫描 3 次,求平均光谱,97 份样品的近红外光谱叠加图见图 1。

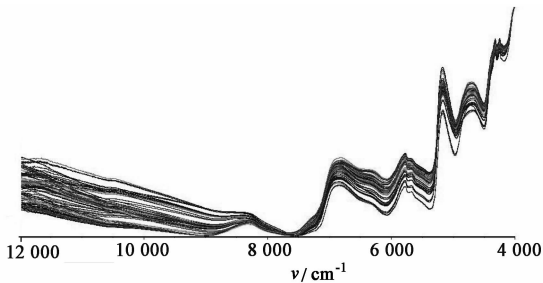


图 1 97 份女贞子样品近红外光谱叠加
Fig.1 Near infrared reflectance spectra of 97 samples

2.2 女贞子中水分参考值测定 采用 2010 年版《中国药典》附录 IX H 水分测定法中第一法“烘干法”进行测定。取女贞子样品约 2 g,平铺于干燥至恒重的扁形称量瓶中,精密称定,打开瓶盖在 105 ℃

干燥 5 h,将瓶盖盖好,移置干燥器中,冷却 30 min,精密称定,再在 105 ℃干燥 1 h,冷却,称重,至连续 2 次称重的差异不超过 5 mg 为止,根据减失的质量^[1],计算女贞子样品中含水量(%),结果见表 1。

表 1 女贞子中水分测定

Table 1 Moisture content of 97 samples %					
No.	水分含量	No.	水分含量	No.	水分含量
1	8.51	34	7.88	67	9.94
2	8.34	35	5.96	68	9.42
3	8.46	36	6.09	69	9.53
4	13.34	37	5.97	70	9.30
5	12.43	38	7.34	71	9.31
6	9.56	39	7.48	72	9.69
7	9.45	40	7.24	73	9.42
8	9.39	41	7.44	74	9.79
9	11.15	42	7.43	75	9.64
10	11.02	43	7.16	76	9.18
11	10.50	44	7.40	77	9.75
12	9.59	45	7.66	78	9.60
13	9.62	46	7.05	79	9.44
14	9.00	47	7.54	80	9.37
15	7.99	48	7.20	81	9.34
16	8.91	49	7.19	82	9.39
17	8.45	50	8.71	83	9.26
18	8.38	51	9.21	84	8.94
19	8.52	52	9.01	85	9.14
20	8.28	53	9.35	86	9.11
21	8.35	54	9.11	87	9.20
22	8.18	55	9.28	88	9.04
23	9.60	56	9.20	89	9.38
24	8.98	57	9.11	90	9.13
25	9.30	58	9.37	91	8.89
26	8.37	59	9.32	92	8.92
27	8.09	60	9.38	93	9.24
28	8.37	61	9.46	94	8.79
29	6.62	62	9.77	95	8.58
30	6.83	63	9.18	96	8.55
31	6.62	64	9.13	97	8.92
32	8.02	65	9.32		
33	7.80	66	9.38		

2.3 女贞子中水分含量定量模型的建立与验证 从 97 份女贞子样品中,根据女贞子中水分含量的分布范围,选择其中 73 份有代表性的样品组成校

正集,其余 24 份样品为验证集,其含量范围处于校正集样品含量范围之内^[10]。校正集和验证集样品水分含量的分布范围,见表 2。

表 2 校正集与验证集样品水分分布范围

样品	样品量	最大值	最小值	平均值
校正集	73	13.34	5.96	8.88
验证集	24	9.94	5.97	8.65

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),Savitzky-Golay filter, Norris derivative filter 等。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, RMSEP 越小越好^[11],见表 3。由表可以看出, MSC + Norris derivative filter + First derivative 处理方法效果最好。

表 3 不同预处理方法对定量模型性能的影响

Table 3 Effects of different pretreatment methods on quantitative model performance

光谱预处理方法	R^2	RMSEC	RMSEP	RMSECV
Constant	0.987 79	0.192	0.235	0.241 50
MSC + First Derivative	0.993 45	0.141	0.232	0.285 38
MSC + Second Derivative	0.994 97	0.124	0.457	0.565 34
SNV + Second Derivative	0.995 06	0.122	0.458	0.566 52
SNV + First Derivative	0.993 38	0.142	0.236	0.276 53
MSC + ND + First Derivative	0.986 87	0.199	0.220	0.246 41
MSC + ND + Second Derivative	0.983 20	0.225	0.262	0.293 68
MSC + SG + First Derivative	0.992 69	0.149	0.230	0.275 60
MSC + SG + Second Derivative	0.985 77	0.207	0.315	0.425 22
SNV + SG + First Derivative	0.992 72	0.149	0.235	0.271 73
SNV + SG + Second Derivative	0.986 73	0.200	0.312	0.414 42
SNV + ND + First Derivative	0.986 25	0.204	0.218	0.247 57
SNV + ND + Second Derivative	0.995 15	0.121	0.238	0.250 60

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,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 4 253.85 ~ 9 117.82 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 4 不同光谱范围对 R^2 和 RMSECV 的影响

光谱范围/ cm^{-1}	R^2	RMSECV
4 126.92 ~ 8 134.86	0.624 04	1.031 27
4 253.85 ~ 9 117.82	0.986 87	0.246 41
5 169.03 ~ 10 388.90	0.985 95	0.247 75

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。当 PLS 因子数为 8 时 RMSECV 较小,为最佳建模主成分数。见图 2。

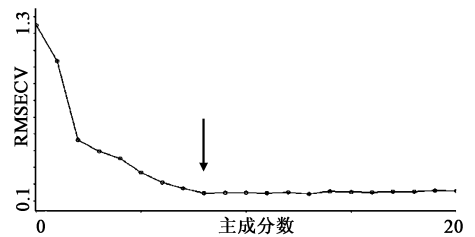


图 2 RMSECV 值随主成分的变化

Fig. 2 RMSECV value with different factors for moisture

2.3.4 定量模型的建立 运用 TQ Analyst 8.0 软件中的 PLS 法建立模型,对光谱进行 MSC + Norris derivative filter + First derivative 预处理,采用 4 253.85 ~ 9 117.82 cm^{-1} 波段,8 个主成分数进行建模,所建立模型的 $R^2 = 0.986 87$, RMSEC = 0.199, RMSEP = 0.220, RMSECV = 0.246 41。NIR 预测值与烘干法参考值的相关见图 3,偏差见图 4,从图中可以看出 NIR 预测值与烘干法参考值接近,该模型可用于女贞子中水分的定量分析。

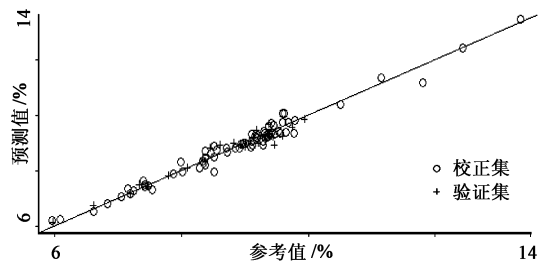


图 3 女贞子水分的预测值与参考值的相关性

Fig. 3 Correlation between NIR predicted and reference values for moisture

2.3.5 定量模型的验证 将 24 份验证集样品的 NIR 图输入校正模型,预测其水分含量,并用验证集

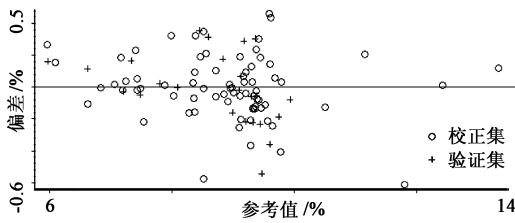


图 4 女贞子水分的预测值与参考值的偏差

Fig. 4 Deviation between NIR predicted and reference values for moisture

预测相关系数 (R^2) 和预测均方差 (RMSEP) 来判断模型的适用性与准确性。预测相关系数 (R^2) 越接近 1, 预测均方差 (RMSEP) 越小, 模型的准确性越高, 适用性越强。24 份验证集样品的预测值与参考值比较接近, R^2 为 0.956 6, RMSEP 为 0.220。见表 5。因此可认为该模型能准确预测其覆盖范围的女贞子水分含量。

表 5 24 份验证集样品的近红外模型预测值

Table 5 Comparison of NIR predicted and reference actual values for moisture

No.	参考值	预测值
1	7.34	7.51
2	7.48	7.43
11	7.20	7.17
14	9.21	8.99
18	5.97	6.13
30	9.13	9.20
33	9.94	9.86
42	9.18	9.47
43	9.75	9.56
45	9.44	9.21
46	9.37	9.67
51	6.62	6.73
58	9.60	9.24
60	9.30	9.24
61	8.45	8.81
64	9.00	8.84
72	9.39	9.33
74	8.09	8.09
82	9.10	9.08
85	9.33	9.10
89	9.47	8.92
90	8.83	9.00
91	8.60	8.91
95	7.80	7.82

3 讨论

中药中水分的含量与药材的质量密切相关, 而其质量的优劣直接关系到临床效果, 因此严格控制药材水分含量势在必行。本试验利用近红外光谱分析技术结合 PLS 建立了女贞子药材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环保的分析技术, 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, 这些优点弥补了传统分析方法的不足, 在中药制药行业将会发挥越来越大的作用。

[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, 2010; 43, 附录 52.
- [2] 张家连. 试论中药材品质变异的因素及对策[J]. 中外医疗, 2008, 27(16): 79.
- [3] 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; 33-36.
- [4] 周文婷, 林萍, 王海霞, 等. 近红外光谱技术在中药领域质量评价中的应用[J]. 湖北农业科学, 2014, 53(14): 3231-3233.
- [5] 李季静. 近红外光谱分析技术在药学领域的应用[J]. 首都医药, 2010, 17(4): 15-16.
- [6] 封银曼, 张威, 白杨. 黄芩提取物有效成分的近红外光谱定量分析[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(7): 84-87.
- [7] 褚小立, 陆婉珍. 近五年我国近红外光谱分析技术研究与应用进展[J]. 光谱学与光谱分析, 2014, 34(10): 2595-2596.
- [8] 白雁. 现代近红外光谱分析技术在药品及食品品质评价系统中的应用[M]. 北京: 高等教育出版社, 2009; 81-83.
- [9] 胡昌勤, 冯艳春. 近红外光谱法快速分析药品[M]. 北京: 化学工业出版社, 2010; 57-60.
- [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): 57-60.
- [11] 万楷杨, 高慧敏, 张启伟, 等. 近红外漫反射光谱法快速测定苦参和白土苓药材的水分[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(10): 56-59.

[责任编辑 顾雪竹]