

· 化学与分析 ·

## 近红外光谱法快速测定砂仁中的水分

赵红宁, 刘喜乐, 曹庆玺, 黄柳芳, 姬生国\*  
(广东药科大学, 广州 510006)

**[摘要]** 目的:运用近红外光谱分析技术(NIRS)快速测定砂仁中水分。方法:采用减压干燥法测定砂仁样品中的水分,用标准归一化法和二阶导数法同时对光谱进行预处理,结合偏最小二乘法(PLS)建立砂仁中水分的近红外定量分析模型。结果:所建模型的校正集内部交叉验证相关系数( $R^2$ ),校正均方差(RMSEC),预测校正均方差(RMSEP)和性能指数(PI)分别为0.986 7,0.242,0.285,92.5。结论:该方法具有简便、快速、准确、无损等特点,可用于砂仁中水分的快速测定。

**[关键词]** 近红外光谱分析技术; 偏最小二乘法; 砂仁; 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)15-0033-04

**[doi]** 10.13422/j.cnki.syfjx.2016150033

**[网络出版地址]** <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20160603.1147.038.html>

**[网络出版时间]** 2016-06-03 11:47

## Rapid Determination of Moisture Content in Amomi Fructus by Near Infrared Spectroscopy

ZHAO Hong-ning, LIU Xi-le, CAO Qing-xi, HUANG liu-fang, JI Sheng-guo\*  
(Guangdong Pharmaceutical University, Guangzhou 510006, China)

**[Abstract]** **Objective:** To quickly determine the moisture content in Amomi Fructus by using near infrared spectroscopy (NIRS) technology. **Method:** Vacuum drying method was used for determination of moisture content in samples of Amomi Fructus. Both standard normalization method and the second derivative method were used for the spectra pretreatment, combined with partial least squares (PLS) to establish near infrared quantitative analysis models for the moisture content of Amomi Fructus. **Result:** The internal cross-validation correlation coefficient ( $R^2$ ) in the calibration set of the established models, root mean square error of calibration (RMSEC), root mean square error of prediction (RMSEP) and the performance index (PI) were 0.986 7, 0.242, 0.285 and 92.5. **Conclusion:** The method is simple, rapid, accurate, and non-destructive, and can be used for rapid determination of moisture content in Amomi Fructus.

**[Key words]** near infrared spectroscopy; partial least squares; Amomi Fructus; moisture content; rapid determination

砂仁是姜科植物绿壳砂、阳春砂、海南砂的干燥果实,具有化湿开胃、温脾止泻、理气安胎的功效。药材水分过高会降低有效成分含量,甚至直接影响临床疗效<sup>[1]</sup>。2015年版《中国药典》中规定,砂仁的水分不得超过15.0%<sup>[2]</sup>。常规的砂仁水分测定方

法为甲苯法,该法耗时较长,且所用试剂具有较强毒性,在中药实际生产加工过程中工序繁琐,难以实现健康检测和现代化监测,因此,需建立一种准确、简便、快速检测中药砂仁水分的方法。

近红外光谱法(NIRS)在评价中药质量时,无须

**[收稿日期]** 20160107(012)

**[基金项目]** 广东省科技计划项目(2009B030801044)

**[第一作者]** 赵红宁,在读硕士,从事生药活性成分与质量评价研究,Tel:020-39352173,E-mail:dzyfz\_hn@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、中药新药以及分子生药学研究,Tel:020-39352173,E-mail:shengguo\_ji@163.com

样品前处理,测定过程快速、无损、绿色健康、经济环保,具有常规分析方法所不具有的优点<sup>[3]</sup>。该法在中药定性、定量分析中日益受到重视和广泛应用<sup>[4-7]</sup>。本研究为建立砂仁水分模型,为测定砂仁水分测定提供新思路。

### 1 材料

Nicolet 6700 型傅立叶变换近红外光谱(配有漫反射积分球,样品旋转器及石英样品杯,OMNIC 光谱采集软件和 TQ8.0 分析软件,美国 Thermo 公司),AY120 型 1/10 万天平(日本岛津公司)。

砂仁药材于 2015 年 7—8 月购买于广东、广西、福建等地,共 129 批,经广东药科大学姬生国教授鉴定为姜科植物绿壳砂 *Amomum villosum* var. *xanthioides*, 阳春砂 *A. villosum* 或海南砂 *A. longiligulare* 的干燥果实。药材经除去茎,烘箱中 40 °C 干燥,粉碎,过 50 目筛,迅速转移到自封袋中,置干燥器中备用。五氧化二磷及无水氯化钙均为分析纯。

### 2 方法

**2.1 水分测定** 按照 2015 年版《中国药典》一部砂仁项下规定的附录 IX H 第三法测定,精密称取混合均匀的砂仁样品粉末约 1 g,置于已在供试品同样条件下干燥并称重的称量瓶中,打开瓶盖,放入待用的减压干燥器中,利用真空泵使之减压至 2.67 kPa 的状态并维持 0.5 h,关闭活塞。室温放置 24 h,在减压干燥器出口连接无水氯化钙干燥管,缓慢打开活塞放入气体至内外压相同,关闭活塞,打开干燥器,迅速盖上瓶盖,取出称量瓶,精密称定,计算样品中的水分。本试验测得 129 批砂仁样品的水分在 5.61%~13.75%,符合 2015 年版《中国药典》砂仁项下水分的规定。

**2.2 近红外光谱的采集** 取样品粉末混合均匀后装入石英样品杯,约为样品杯容量的 2/3,使均匀分布。采用积分球漫反射测样系统,分辨率 8 cm<sup>-1</sup>,扫描 64 次,扫描波长范围 4 000~12 000 cm<sup>-1</sup>,相对湿度 25%~30%,室温(22±2) °C。重复装样并扫描 3 次,求平均光谱。129 批样品的 NIR 光谱见图 1。

### 2.3 水分定量校正模型的建立

**2.3.1 校正集与验证集的选择** 根据砂仁样品中水分分布范围,选取 104 批具有代表性的样品作为校正集,其他 25 批作为验证集。校正集和验证集水分分布及统计结果见表 1。

**2.3.2 光谱预处理的选择** 对比组合多元散射校

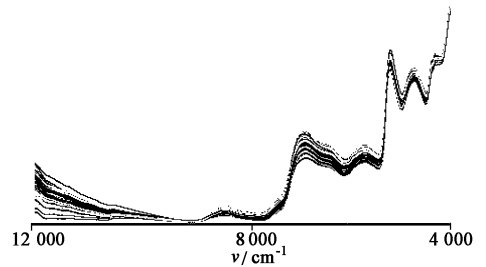


图 1 129 批砂仁样品的近红外光谱  
Fig.1 NIRs of 129Amomi Fructuss amples

表 1 砂仁样品中校正集和验证集的水分布  
Table 1 Moisture content distribution of validation and calibration of Amomi Fructus

组成	样品/个	最小值	最大值	平均值	%
校正集	104	5.61	13.75	8.98	
验证集	25	7.29	11.49	9.00	

正法(multiplicative signal correction, MSC),标准归一化法(standard normal variate transformation, SNV),一阶导数法(first derivative),二阶导数法(second derivative)等方法对近红外光谱进行预处理。以交叉验证相关系数(R<sup>2</sup>),校正均方差(RMSEC),预测校正均方差(RMSEP),性能指数(Performance Index, PI)值作为评价指标,其中 R<sup>2</sup> 越接近 1,表示实测值与模型预测值越接近, RMSEC, RMSEP 越小,说明所建模型预测效果越好<sup>[8]</sup>,且一般要求 1 < RMSEC / RMSEP < 1.2<sup>[9]</sup>, PI 最大值是 100,越接近 100 越好。采用 SNV + Second Derivative 预处理后的光谱所建立的 PLS 定量分析模型较优,模型的内部稳健性、拟合度和预测能力均相对较好,因此选定该方法为光谱的预处理方法,见表 2。经过标准归一化法消除固体颗粒大小,表面散射以及光程变化对漫反射光谱的影响。二阶导数法可有效消除光谱中的倾斜基线<sup>[10]</sup>,达到消除样品颗粒不均匀和基线漂移,提高信噪比等效果。PI 有 2 种计算方法供选择,一种是 Difference(相对残差和),最大值是 100,越接近 100 越好;一种是 RMSE(均方差),最小值是 0,越接近 0 越好。此处选择前种算法,计算方法分别如下:

$$\text{相对残差和} = \frac{|\text{真实值} - \text{预测值}|}{\text{期望值}} \times 100\%$$

$$\text{RMSE} = \frac{1}{n} \sum (X_{\text{calc}} - X_{\text{known}})^2$$

**2.3.3 模型波段的选择** 对原始光谱进行二阶导数处理,处理后光谱见图 2。

校正模型建立过程中,在某些光谱区域,样品的光谱信息较弱,与其样品指标性质间的相关性很小,

表 2 不同预处理方法对砂仁模型稳健性的影响

Table 2 Effects of different pretreatment methods on model robustness of Amomi Fructus

建模参数		评价参数			
光谱预处理方法	主因子数	$R^2$	RMSEC	RMSEP	PI
constant(无)	3	0.850 32	0.782	0.920	75.7
MSC	4	0.871 42	0.729	0.778	79.4
SNV	3	0.849 18	0.785	0.826	78.2
SNV + 1st Der	3	0.864 01	0.748	0.785	79.2
SNV + 2st Der	7	0.986 66	0.242	0.285	92.5
MSC + 2st Der	7	0.986 56	0.243	0.286	92.4

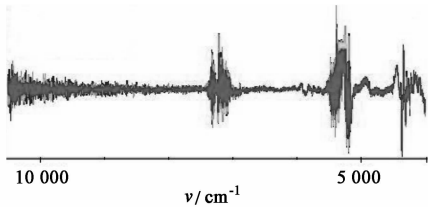


图 2 砂仁的二阶导数光谱

Fig. 2 Infrared Spectrum of Amomi Fructus pretreated by second derivative

若采用全光谱计算,计算量较大。因此应选择适当波段,有利于提高模型的预测性。近红外光谱中水分子组合频吸收在  $5\ 155\ \text{cm}^{-1}$  和  $6\ 880\ \text{cm}^{-1}$  谱带处<sup>[11]</sup>,以此为参考,并以  $R^2$ , RMSEC, RMSEP 为指标。虽然在波段为  $4\ 890.59 \sim 7\ 092.90\ \text{cm}^{-1}$ ,  $5\ 155.73 \sim 7\ 150.75\ \text{cm}^{-1}$  时所建的模型,  $R^2$  更接近于 1,但存在过拟合现象<sup>[12]</sup>,不宜采用。因此,最佳建模波段为  $4\ 890.59 \sim 7\ 150.75\ \text{cm}^{-1}$ 。见表 3。

表 3 建模波段与模型性能的关系

Table 3 Relationship of spectra wavelengths with performance of model

建模区间/ $\text{cm}^{-1}$	$R^2$	RMSEC	RMSEP	主因子数
$5\ 155.73 \sim 7\ 150.75$	0.990 4	0.206	0.320	8
$5\ 048.73 \sim 7\ 150.75$	0.985 5	0.252	0.277	7
$4\ 890.59 \sim 7\ 150.75$	0.986 7	0.242	0.285	7
$4\ 890.59 \sim 7\ 092.90$	0.994 4	0.159	0.313	8
$4\ 890.59 \sim 7\ 255.00$	0.968 4	0.370	0.332	6
$4\ 890.59 \sim 7\ 355.17$	0.980 6	0.291	0.341	7

**2.3.4 主因子数的选择** 在建立近红外定量分析模型中,确定最佳主因子数是关键,主因子数选取过多或过少会导致光谱信息过多(例如噪音信息)或不完全地带入模型,出现过拟合或欠拟合的现象<sup>[13]</sup>。本研究通过内部交叉验证的方法,考察了主因子数对内部交叉验证均方差(RMSECV)的影响。

RMSECV 越小,说明模型的预测的准确度越高。本试验选得最小 RMSECV 为 0.884 1,7 为其对应的最佳主因子数,见图 3。

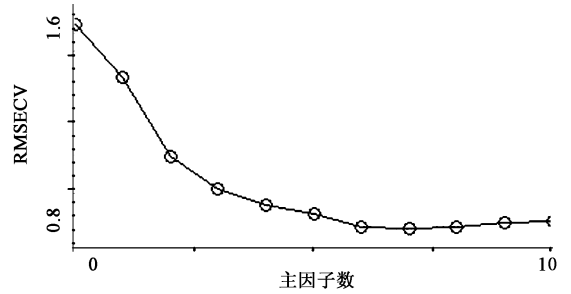


图 3 RMSECV 与最佳主因子数之间关系

Fig. 3 Relationship of RMSECV value and principal components

**2.3.5 模型的建立** 采用 PLS 法建立水分定量模型,校正集样品在回归线两侧均匀分布,见图 4,5。模型性能参数  $R^2$  为 0.986 7, RMSEC 为 0.242, RMSEP 为 0.285。

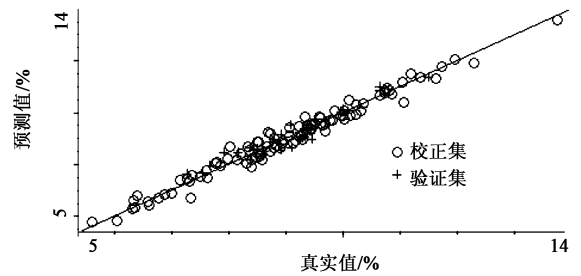


图 4 校正集样品交叉验证得到的 NIR 预测值与实测值间的相关

Fig. 4 Relationship between NIR predicted value and measured value in calibration samples

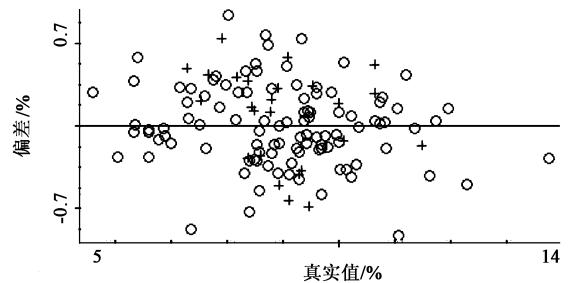


图 5 校正集与验证集的 NIR 预测值与参考值之间的绝对偏差

Fig. 5 Deviation between NIR predicted value and reference value in calibration and validation samples

**2.3.6 模型稳健性验证** 为了检验校正模型的稳健性<sup>[14]</sup>,将 25 批验证集样品的近红外光谱数据代入所建立定量分析模型进行计算,并将计算结果与减压干燥法测得值进行比较,最大绝对偏差  $0.52\% <$  平均值的  $10\%$ ,以回收率评价样品的 NIR 预测值的准确性,得平均回收率  $100.59\%$ ,详见表 4。结果说明, NIRS 测定砂仁中水分是准确可行的。

**2.3.7 相对分析** 误差(RPD)采用 RPD (SD 与

表 4 25 批验证集样品的平均回收率

No.	实测值	预测值	绝对偏差	平均回收率 %
1	9.339 8	9.065 3	-0.274 5	
2	10.008 5	10.140 7	0.132 2	
3	8.502 0	8.595 7	0.093 7	
4	8.384 2	8.186 3	-0.197 9	
5	9.293 1	8.998 2	-0.294 9	
6	9.462 2	8.971 3	-0.490 9	
7	8.779 5	8.862 0	0.082 5	
8	8.598 9	8.417 0	-0.181 9	
9	8.800 0	8.959 6	0.159 6	
10	8.929 9	8.569 2	-0.360 7	
11	7.925 3	8.448 8	0.523 5	
12	8.382 4	8.650 2	0.267 8	
13	8.182 7	8.473 2	0.290 5	100.59
14	7.286 3	7.634 4	0.348 1	
15	9.527 3	9.767 5	0.240 2	
16	9.107 8	8.656 1	-0.451 7	
17	8.439 3	8.553 9	0.114 6	
18	8.921 4	9.146 1	0.224 7	
19	7.663 7	7.971 4	0.307 7	
20	7.540 5	7.690 2	0.149 7	
21	9.091 3	9.503 4	0.412 1	
22	11.493 8	11.374 4	-0.119 4	
23	10.645 8	11.011 6	0.365 8	
24	10.641 5	10.839 5	0.198 0	
25	10.089 0	9.603 2	-0.485 8	

RMSECV 比值)进一步评价校正模型,如果  $RPD < 2.5$ ,即表明难以对该成分进行 NIRS 定量分析;如果  $3 > RPD > 2.5$ ,表明应用近红外光谱分析技术对该成分进行定量分析可行,但需进一步提高模型预测精确度;若  $RPD$  大于或等于 3,表明所建模型可应用于实际检测中<sup>[15]</sup>。砂仁 NIR 经过 Second Derivative + SNV 处理后,选用建模波段在  $4\ 890.59 \sim 7\ 150.75\ \text{cm}^{-1}$ ,前 7 个主成分建立了最优校正模型。该模型的  $R^2$  为 0.986 7, RMSEC 为 0.242, RMSECV 为 0.884 1, RPD 为 8.66,表明所建的校正模型很好地满足了实际生产中对分析精度的要求。

**2.3.8 双边 t 检验** 对校正模型的预测值与实测值进行了配对双边 t 检验,结果  $t = 0.695$ ,  $P = 0.494 > 0.05$ ,说明 NIRS 预测值与实测值之间无显著性差异,所建模型可用于预测其覆盖范围内砂仁水分。

### 3 结论

本文采用 NIRS 结合 PLS 法建立了砂仁中水分测定的分析模型,经过对模型验证与评价,证明采用近红外光谱法测定砂仁中水分的模型准确可靠。与常规方法相比,NIRS 操作简便、快速无损、准确可

靠,分析成本低,绿色环保,同时该法改善了中药化学分析有效性,尤其是中药质量控制方面。可用于大批量砂仁中水分快速准确测定。

#### [参考文献]

[1] 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.

[2] 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,2015:253.

[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,2007:44.

[4] 白雁,张威,王星.近红外光谱法测定不同厂家银黄颗粒中黄芩苷含量[J].中国中药杂志,2010,35(2):166-168.

[5] 王东,贾永,姬生国.近红外光谱法对不同蒸制时间地黄的鉴别研究[J].光谱实验室,2010,27(4):1356-1360.

[6] 王东,王玲.近红外光谱法测定黄芩药材中黄芩苷的含量[J].中医研究,2001,20(2):20-22.

[7] 卢慧娟,贾灿灿,赵红宁,等.近红外光谱法结合 PLS 测定夏枯草中的水分[J].中国医药工业杂志,2015,46(7):746-749.

[8] 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.

[9] 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.

[10] 张铮.近红外光谱一致性法、相关系数法和偏小二乘法在中药鉴定识别与定量分析中的应用[D].济南:山东大学,2011.

[11] 林萍,王海霞,周文婷,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(8):99-103.

[12] 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.

[13] 蔡佳良,郭念欣,黄洁燕,等.不同干燥方法对广藿香中百秋李醇含量影响的近红外光谱分析[J].中国中药杂志,2013,34(1):53-54.

[14] 吴利敏,杨琼,周尚,等.近红外光谱法快速测定虎杖中虎杖苷、白藜芦醇、大黄的含量[J].药物分析杂志,2012,32(9):1583-1588.

[15] 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.

[责任编辑 顾雪竹]