

# 近红外光谱法快速测定天南星药材中水分

张永欣<sup>1</sup>, 李春<sup>1</sup>, 冯伟红<sup>1</sup>, 杨立新<sup>1,2\*</sup>

(1. 中国中医科学院 中药研究所 中药质量控制技术国家工程实验室, 北京 100700;  
2. 中国中医科学院 道地药材国家重点实验室培育基地, 北京 100700)

**[摘要]** **目的:**应用近红外光谱技术(NIR)建立快速测定天南星药材中水分的方法。**方法:**采用烘干法测定样品中的水分,运用偏小二乘法(PLS)建立该含量与NIR光谱之间的多元校正模型,采用相关系数( $R$ ),校正均方根误差(RMSEC),内部交叉验证均方根误差(RMSECV)和外部预测均方根误差(RMSEP)对校正模型进行优化和评价。利用校正模型对未知样品的水分进行预测,检验模型的准确度。**结果:**采用二阶导数法对光谱进行预处理,在 $4\ 774\sim 9\ 845\ \text{cm}^{-1}$ 波段,选择前6个主成分建立最优校正模型,所建模型的 $R$ 为0.990 6, RMSEC为0.16, RMSECV为0.38。经外部验证,校正模型的RMSEP和平均回收率分别为0.298和99.8%。**结论:**该方法具有简便快速、结果准确、无损样品的特点,可以应用于天南星中水分的快速测定。

**[关键词]** 近红外光谱测定法; 偏小二乘法; 无损分析; 天南星; 水分

**[中图分类号]** R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2016)16-0058-04

**[doi]** 10.13422/j.cnki.syfjx.2016160058

## Quick Quantitative Analysis of Water Content in Arisaematis Rhizoma by Near-infrared Spectrometry

ZHANG Yong-xin<sup>1</sup>, LI Chun<sup>1</sup>, FENG Wei-hong<sup>1</sup>, YANG Li-xin<sup>1,2\*</sup>

(1. Institute of Chinese Materia Medica, China Academy of Chinese Medicine Sciences, National Engineering Laboratory for Quality Control Technology of Chinese Herbal Medicines, Beijing 100700, China; 2. State Key Laboratory and Breeding Base of Geo-authentic Herbs, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100700, China)

**[Abstract]** **Objective:** To establish a new method for rapidly determining the water content in Arisaematis Rhizoma using near-infrared (NIR) spectroscopy. **Method:** The water content in Arisaematis Rhizoma was determined by the oven drying method, and the multivariate calibration model between the measured content and the NIR spectrum was established by the partial least square (PLS) regression method. The established model was optimized and evaluated using the correlation coefficient ( $R$ ), the root-mean-square error of calibration (RMSEC), the root mean square of cross-validation (RMSECV) and the root mean square of prediction (RMSEP). The accuracy of the calibration model was tested by comparing the predicted values and the measured values of the water contents in samples of the prediction model. **Result:** The NIR spectra were processed by the second derivative spectrophotometry, and the optimal spectral intervals for establishing model ranged between  $4\ 774\sim 9\ 845\ \text{cm}^{-1}$ , and six optimal principle components were included. Under the optimal conditions, the quantitative calibration model was established, with  $R$  of 0.990 6, RMSEC of 0.16 and RMSECV of 0.38. According to the external validation, the RMSEP and average recovery of the calibration model were 0.298

**[收稿日期]** 20150818(007)

**[基金项目]** 中医药行业科研专项(201407003)

**[第一作者]** 张永欣, 硕士, 主管技师, 从事中药化学与质量控制研究工作, Tel: 13718311247, E-mail: snonxin@126.com

**[通讯作者]** \* 杨立新, 副研究员, 从事中药化学与质量控制研究工作, Tel: 010-64021008, E-mail: ayblex@126.com

and 99.8%, respectively. **Conclusion:** The near-infrared spectroscopy quantitative model established in this study is stable, accurate and reliable for the rapid determination of the water content in *Arisaematis Rhizoma*.

[**Key words**] near-infrared spectrometry (NIRS); partial least squares (PLS); nondestructive analysis; *Arisaematis Rhizoma*; water content

近红外光谱是指波数在  $4\ 000 \sim 12\ 000\ \text{cm}^{-1}$  的电磁波,是化合物中 C-H, O-H, N-H 等基团伸缩振动的倍频或合频的吸收。其特点是吸收较弱,样品不需稀释就可测量,易于实现简便、快速的非破坏分析。近红外光谱大量用于食品,农业,石油化工、纺织和药品等行业的质量分析,近年来在我国中药分析以及中药生产在线控制方面取得了较快的发展<sup>[1-2]</sup>。对上百种中药材的可行性应用研究结果表明,近红外光谱能够简便、快速、准确地鉴别中药材的种类、产地和真伪,并且能够快速测定中药材中有效成分的含量以及中药材、中药饮片和中成药中水分<sup>[3-7]</sup>。

中药材和中药饮片水分过大,不仅在贮存保管过程中容易生虫、霉变,使有效成分降解,含量降低,且在配方称量时相对减少了实际用量,影响了临床效果。因此,历版《中国药典》中都规定了中药材和中药饮片的水分限度。2015 年版《中国药典》收录的中药材和中药饮片的水分限度介于 6% ~ 19%,测定方法 95% 采用烘干法,5% 采用甲苯法<sup>[8]</sup>。烘干法使用仪器简单,测定结果准确,但是耗时长,操作繁琐,受温度、湿度等影响大,亟待改进。已有研究表明,待测成分在样品中的含量越高,近红外光谱测定结果的准确性越好,通常认为含量 > 0.1% 的物质可以用近红外光谱进行定量分析。从新版《中国药典》中收录的水分限度可知,中药材和中药饮片水分最低应在 5% 左右(按照不得过 6% 计算,这个标准通常是采用 10 批药材测定结果平均值的 120% 得到的),因此完全可采用近红外光谱对其进行快速定量分析。至今为止,已有夏枯草<sup>[9]</sup>、制何首乌<sup>[10]</sup>、木香<sup>[11]</sup>等几十种中药材和饮片采用近红外光谱法进行水分分析的研究报道,这些报道中以经典烘干法测定结果为实测值,近红外光谱测定结果回收率均达到 98% 之上,因此可预测近红外光谱法未来有望成为中药材和中药饮片中水分测定的法定方法。

天南星具有散结消肿之功,外用治痈肿,蛇虫咬伤<sup>[8]</sup>。天南星药材中含有大量淀粉,水分高时极易发生霉变,因此控制水分是保证天南星药材质量的重要环节。2015 年版《中国药典》规定天南星药材

水分不得过 15.0%,测定方法为烘干法。至今尚未见采用近红外光谱法测定天南星中水分的研究报道。本研究采用近红外光谱技术结合化学计量学方法建立了天南星药材中水分的定量分析模型,为天南星药材中的水分测定提供了一种新的分析方法。

### 1 材料

Antaris II 型傅立叶变换近红外光谱仪(美国 Thermo 公司,配置固体漫反射检测器,石英样品杯,RESULT 3 光谱采集软件,TQ9.0 分析软件),FW100 型高速万能粉碎机(天津市泰斯特仪器有限公司生产),FA2004A 型 1/10 万天平(梅特勒)。

100 批天南星药材分别购自湖南、甘肃、重庆、吉林、成都、云南昆明等地,由中国中医科学院中药资源中心金艳鉴定为天南星科植物天南星 *Arisaema erubescens*,异叶天南星 *A. heterophyllum*,或东北天南星 *A. amurense* 的干燥块茎。

### 2 方法

**2.1 水分测定** 采用 2015 年版《中国药典》一部附录 IX H 水分测定法中第一法“烘干法”对 100 批天南星样品中的水分进行测定。

**2.2 近红外光谱的采集** 取来自不同产地或购买地的天南星样品 100 份,将样品进行粉碎,过 40 目筛,于 80 °C 下干燥 24 h,然后均称取 5 g 扫描光谱。采集光谱时,将称量好的天南星粉末装入近红外光谱仪所附带的 10 cm 石英样品杯内,等力压平,采用积分球漫反射方式采集 100 个样品的近红外光谱。以空气为参比,扫描范围  $4\ 000 \sim 12\ 000\ \text{cm}^{-1}$ ,扫描次数 64 次,分辨率为  $16\ \text{cm}^{-1}$ 。每个样品重复装样 3 次,取其平均光谱,见图 1。

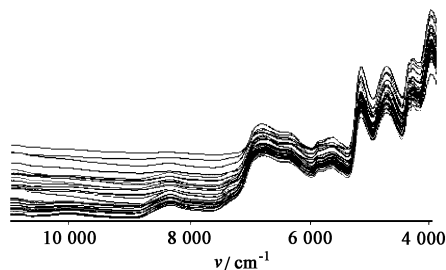


图 1 100 份天南星样品的近红外光谱  
Fig. 1 Near-infrared absorption spectra of 100 batches of samples

**2.3 定量分析模型的建立** 将天南星样品水分值

和近红外光谱数据输入 TQ 9.0 光谱定量分析软件, 进行数据处理, 采用偏最小二乘法 (partial least squares, PLS) 建立定量校正模型, 软件随机选取 100 个样品中的 80 个样品组成校正样品集, 其余 20 个作为验证集建立模型。所建模型用校正集相关系数 ( $R$ ), 校正均方根误差 (root mean square error of calibration, RMSEC) 来评价,  $R$  越接近于 1, RMSEC 越小, 表明模型结构越合理。其预测能力可通过预测均方差 (root mean square error of predication, RMSEP) 作为衡量指标, RMSEP 越小, 表明模型的预测性能和推广能力越强。

### 3 结果与分析

**3.1 天南星中水分测定** 采用烘干法测定了 100 份天南星药材中的水分, 用于建立水分预测模型的天南星中水分在 7.18% ~ 12.6%, 符合一定的梯度分布及建模要求。

**3.2 校正集和验证集的选择** 从 100 份天南星样品中随机选择 80 个样品作为校正集, 其余 20 个作为验证集, 要保证验证集的含量范围在校正集的含量范围之内, 见表 1。

表 1 校正集和验证集中水分分布

Table 1 Water content range in calibration model and prediction model %

样品集	最小值	最大值	平均值	RSD
校正集 ( $n=80$ )	7.78	12.5	10.35	11.61
预测集 ( $n=20$ )	8.65	12.0	10.41	9.80

**3.3 光谱预处理方法的选择** 实验中采集的光谱信号除包含与样品组成有关的信息外, 同时也包含有高频噪音、基线漂移、光散射、样品的状态、杂散光及仪器响应等干扰信息。因此, 在建立校正分析模型前, 必须对原始光谱进行预处理以消除各种噪声和干扰, 提高模型的精密度和稳定性。常用的光谱预处理方法主要有平滑、多元散射校正 (multiplicative scatter correction, MSC), 一阶导数, 二阶导数, 标准正态变量变换 (standardized normal variate, SNV) 等。本实验以交叉验证均方差 (root mean square errors of cross-validation, RMSECV), RMSEP 和  $R$  为评价标准对几种预处理方法进行了比较, 一个性能好的模型应具有较高的  $R$ , 较低的 RMSECV 和 RMSEP, 比较结果见表 2。由表 2 可知, 采用二阶导数法  $R$  为平均最高, 而 RMSECV 和 RMSEP 值为平均最低, 因此选用二阶导数法为光谱数据预处理方法。

表 2 不同光谱预处理方法对 PLS 模型参数的影响

Table 2 Effect of different preprocessing methods on PLS model

预处理方法	RMSECV	RMSEP	$R$
原始光谱	0.434	0.423	0.945 5
一阶导数	0.414	0.403	0.965 0
二阶导数	0.380	0.298	0.990 6
标准归一化法 + 二阶导数	0.447	0.323	0.984 6
多元散射校正法 + 二阶导数	0.452	0.322	0.983 6

**3.4 波段选择** 采用 PLS 选择波段。PLS 法是将全光谱等分为一定数量的子区间, 采用子区间分别建立 PLS 模型, 通过 RMSECV 和 RMSEP 两个指标对子区间进行评价。RMSEP 远大于 RMSECV, 说明建模样品代表性差, RMSEP 远小于 RMSECV, 说明验证样品代表性差。本文采用 PLS 法将全光谱划分为 5 段, 选择 RMSECV 值低于全光谱的子区间单独或组合进行建模, 以 RMSECV, RMSEP 和  $R$  为评价标准, 结果见表 3。从表 3 可以看出, 建模波段为 9 845 ~ 4 774  $\text{cm}^{-1}$  时,  $R$  值最大, RMSECV 和 RMSEP 均较小且比较接近, 因此选择建模波段为 9 845 ~ 4 774  $\text{cm}^{-1}$ 。

表 3 不同光谱区间对 PLS 模型参数的影响

Table 3 Effect of spectral intervals on PLS model

光谱范围/ $\text{cm}^{-1}$	RMSECV	RMSEP	$R$
7 425 ~ 3 942	0.399	0.360	0.972 8
8 524 ~ 4 062	0.382	0.323	0.975 1
9 845 ~ 4 774	0.380	0.298	0.990 6
8 042 ~ 6 538	0.388	0.333	0.972 8
6 061 ~ 4 174			

**3.5 主成分数的选择** 选择不同的主成分数将显著影响 PLS 定量分析模型的预测结果。因为在校正集数目一定的情况下, 主成分过少, 会出现“欠拟合”现象; 而主成分过多则会降低信噪比, 出现“过拟合”现象, 二者皆会导致模型的预测能力下降<sup>[13]</sup>。故本文采取内部交叉验证方法, 考察主成分数对 RMSECV 的影响。本文 RMSECV 最小值水分定量分析的最适主因子数为 6, 见图 2。

**3.6 模型的建立与验证** 采用以上确定的最优条件, 即将所得近红外光谱经过二阶导数处理后, 在 9 845 ~ 4 774  $\text{cm}^{-1}$  波数, 选择前 6 个主成分建立最优校正模型, 该模型的  $R$  为 0.990 6, RMSEC 为 0.16, RMSECV 为 0.38, RMSEP 为 0.30。见图 3。

以验证集 20 批样品的近红外光谱预测值与烘干法实测值的比值作为预测回收率, 所得平均回收

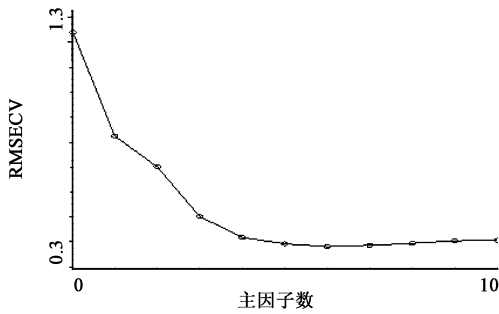


图 2 主因子数与 RMSECV 的相关  
Fig. 2 Correlation graph of principle components with RMSECV

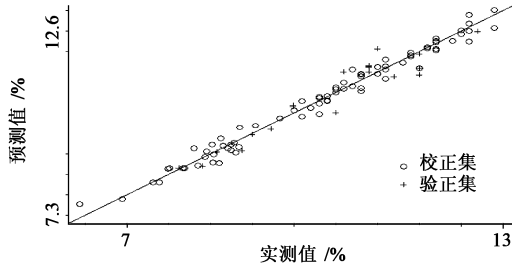


图 3 天南星中水分定量校正模型  
Fig. 3 Quantitative calibration model of water content in Arisaematis Rhizoma by NIRS

率为 98.85%，见表 4。由此可见，建立的模型基本能满足快速检测的需求。

表 4 模型对预测集样品的预测

No.	实测值	预测值	绝对误差	平均回收率
1	9.50	9.47	-0.03	
2	9.38	9.07	-0.31	
3	8.62	8.65	0.03	
4	9.08	9.04	-0.04	
5	9.99	10.2	0.21	
6	9.73	9.60	-0.13	
7	10.5	10.0	-0.49	
8	8.91	8.69	-0.22	
9	10.9	11.1	0.21	
10	10.6	11.0	0.41	99.8
11	11.0	11.6	0.57	
12	12.2	12.0	-0.2	
13	10.9	11.2	0.27	
14	11.5	11.5	0	
15	10.9	11.0	0.1	
16	11.5	11.1	-0.4	
17	11.2	10.9	-0.31	
18	9.99	10.2	0.18	
19	11.5	10.9	-0.57	
20	10.9	11.2	0.25	

#### 4 讨论

本研究利用近红外光谱技术结合化学计量学方法建立了天南星水分测定的新方法，只需采集样品光谱数据，输入所建分析模型即可快速检测出天南星药材中水分，整个分析过程几分钟内即可完成，而且分析结果的准确度和精密密度均符合检测要求。该分析方法既可在实验室进行分析，也可在生产过程中用于原材料的快速现场分析，与常规检测方法相比，具有快速、无损、绿色、简便等特点。因此，该方法对于大量天南星药材中水分的快速测定是一种非常值得推广的绿色分析方法。

#### [参考文献]

- [1] 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): 2595-2605.
- [2] 李洋, 吴志生, 潘晓宁, 等. 在线近红外光谱在我国中药研究和生产中应用现状和展望[J]. 光谱学与光谱分析, 2014, 34(10): 2632-2638.
- [3] 胡咏川, 田晓鑫, 刘蕾, 等. 近红外光谱技术鉴定中药的进展[J]. 中国中药杂志, 2012, 37(8): 1066-1071.
- [4] 王耀鹏, 顾志荣, 孙宇靖, 等. 近红外光谱快速定量技术在中药分析中的最新应用进展[J]. 中国实验方剂学杂志, 2015, 21(9): 223-226.
- [5] 申云霞, 赵艳丽, 张雯, 等. 红外光谱在中药质量研究中的应用[J]. 世界科学技术—中医药现代化, 2015, 17(3): 664-669.
- [6] 周文婷, 王海霞, 林萍, 等. 近红外光谱法对巴戟天药材中水分含量的快速测定[J]. 湖北农业科技, 2014, 3(21): 5253-5259.
- [7] 张强, 白雁, 雷敬卫, 等. 近红外光谱法快速测定筋骨痛消丸中的水分[J]. 中草药, 2015, 37(9): 1965-1968.
- [8] 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: 57.
- [9] 卢慧娟, 贾灿潮, 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.
- [10] 贾灿潮, 卢慧娟, 姬生国. NIRS 快速测定制何首乌中的水分[J]. 中国实验方剂学杂志, 2015, 21(16): 52-55.
- [11] 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.

[责任编辑 顾雪竹]