

近红外漫反射光谱法快速测定山茱萸水分含量

龚海燕, 胡亚楠, 谢彩侠, 雷敬卫, 白雁*, 崔永霞, 陈志红
(河南中医学院, 郑州 450008)

[摘要] **目的:**利用近红外光谱建立一种快速测定山茱萸水分含量的方法。**方法:**采用烘干法测定山茱萸样品中的水分含量,运用偏最小二乘法(PLS)建立其含量与近红外光谱之间的校正模型,对山茱萸样品中的水分含量进行快速测定。**结果:**通过比较不同的建模参数,优化模型,建立水分模型的相关系数(R^2),校正均方差(RMSEC)和预测校正均方差(RMSEP)分别为 0.990 52, 0.297, 0.819。**结论:**该方法具有简便快速、准确、无损的特点,可应用于大批量山茱萸药材中水分的快速检测。

[关键词] 近红外光谱法; 偏最小二乘法; 山茱萸; 水分; 快速检测

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)23-0115-04

[doi] 10.11653/syjf2013230115

Rapid Determination of Moisture in Fructus Corni by Near infrared Spectroscopy

GONG Hai-yan, HU Ya-nan, XIE Cai-xia, LEI Jing-wei, BAI Yan*, CUI Yong-xia, CHEN Zhi-hong
(Henan University of Traditional Chinese Medicine, Zhengzhou 450008, China)

[Abstract] **Objective:** To determine moisture in Fructus Corni rapidly by Near infrared Spectroscopy. **Method:** Drying method was used as a reference method to determine the content of moisture in Fructus Corni. In this study, NIR spectra of the powdered Fructus Corni were collected, and the PLS was developed to correlate the spectra and the corresponding values determined by the reference method. **Result:** The correlation coefficient (R^2) of the calibration model of NIR Spectroscopy for moisture was 0.990 52, the root-mean-square error of prediction was 0.297, the prediction mean square error was 0.819. **Conclusion:** The parameters of the model were also discussed. The overall results show that NIR spectroscopy combined with PLS can be efficiently utilized for rapid and accurate analysis of water in Fructus Corni. Simultaneously, the research can serve as the technical support and the foundation of quantitative analysis of other NIR applications.

[Key words] near infrared Spectrum; partial least square; Fructus Corni; moisture; rapid determination

山茱萸是山茱萸科植物山茱萸 *Cornus officinalis* Sieb. et Zucc. 的干燥成熟果肉,别名山萸肉、萸肉、枣皮等,为名贵中药材,具有补益肝肾、涩精固脱的

功效^[1]。在 2010 年版《中国药典》中对山茱萸的水分含量的规定不得超过 16.0%。水分含量过高会引起药材的霉变和虫蛀,严重者可使有效成分分解和酶解,从而降低有效成分含量影响临床疗效。所以,快速控制中药饮片中的水分对于保证饮片质量和临床疗效都有十分重要的意义^[2]。近红外光谱分析技术样品前处理简单、无损、无污染,具有传统分析方法所不具有的优点^[3],近年来广泛用于中药材定性判别和定量分析等方面^[4-9]。但是其谱带较宽,组分间谱带重叠严重,无法直接进行分析,必须与化学计量学相结合。本实验采用近红外光谱法与

[收稿日期] 20130528(022)

[基金项目] 河南省教育厅科技攻关项目(2008A360016);河南省重大公益科研项目(081100912500)

[第一作者] 龚海燕, 讲师, 从事于中药质量研究, Tel: 13838393243, E-mail: ghy_mz@163.com

[通讯作者] *白雁, 教授, 博士生导师, 从事利用现代分析方法对中药进行质量研究, Tel: 13838393243, E-mail: ghy_mz@163.com

偏最小二乘法^[10-11]相结合的方法建立了快速测定山茱萸中水分的定量分析模型,为大批量山茱萸药材中水分的快速测定提供了一种全新的方法。

1 材料与方法

1.1 仪器 近红外光谱仪:美国 Thermo Nicolet 公司 6700 型近红外光谱仪,该仪器配有 InGaAs 检测器,OMMIC 光谱采集软件,50 mL 标准石英杯,TQAnalyst 8.0 软件。

1.2 药品 山茱萸药材(114 份,购于河南西峡、浙江、陕西),经河南中医学院陈随清教授鉴定为山茱萸科植物山茱萸 *Cornus officinalis* Sieb. et Zucc.

1.3 近红外光谱数据采集 将山茱萸的干燥样品粉碎,过 80 目筛,制成粉末样品。每份粉末样品取约 4 g,放入样品杯中,摊平后以空气为参比,扣除背景,采集近红外光谱图。采集方式:积分球漫反射,扫描区间 4 000 ~ 12 000 cm^{-1} ,分辨率 8 cm^{-1} ,扫描次数 32 次,温度(25 ± 2) °C,相对湿度 30% ~ 50%。每个样品扫描 3 次,取平均值作为样品 NIR 光谱图。图 1 是 103 份山茱萸样品的近红外光谱叠加图。

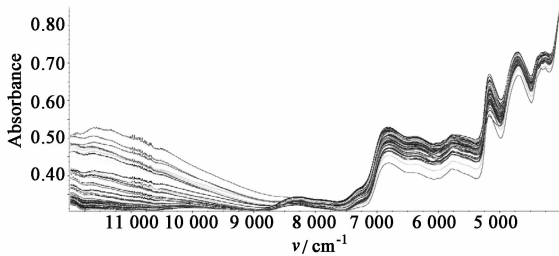


图 1 103 份山茱萸样品的近红外光谱的叠加

1.4 山茱萸水分含量的测定 根据 2010 年版《中国药典》水分测定“烘干法”对山茱萸药材中的水分含量进行测定,计算含水量。

1.5 山茱萸水分含量的定量模型建立 对于复杂的天然产物通常使用偏最小二乘法建模方法^[12]。本实验采用 PLS 建立定量分析模型,并选择不同的预处理方法和不同的谱段,主因子数来建立定量校正模型。模型以内部交叉验证系数(R^2),内部交叉验证均方差(RMSECV),校正均方差(RMSEC),预测均方差(RMSEP)来衡量。 R^2 越大,表示分析模型对校正集预测越准确。RMSECV 越小,校正集样品的预测结果越接近参考值。RMSEC 越小,说明所建模型对校正集预测效果越好^[13]。RMSEP 越小,验证集样品的预测结果越接近参考值。

2 山茱萸水分含量的定量模型建立

2.1 校正集和验证集样品的选择 从山茱萸的

103 份样品中,根据其水分含量分布,选取 90 个有代表性的样品组成校正集,剩余 13 个样品为验证集。如表 1 列出了校正集和验证集样品水分含量分布范围及其统计结果。

表 1 校正集和验证集样本水分含量分布范围 %

| 样品集 | 样品数 | 最大值 | 最小值 | 平均值 |
|-----|-----|--------|------|----------|
| 校正集 | 90 | 16.4 | 5.39 | 12.655 5 |
| 验证集 | 13 | 14.955 | 8.9 | 11.829 6 |

2.2 光谱的预处理 测量得到的近红外光谱数据中,不可避免地含有各种各样与其他无关的信息和噪声,如电噪音、样品背景和杂散光等。这些与光谱数据无关信息和噪声的存在影响了数据的分析和模型的建立,为消除各种噪声对光谱的干扰,需要采用必要的方法对光谱进行预处理,提高所建立的近红外光谱模型预测的准确性和精度。因此,在建模型前,首先对样品的原始吸收光谱进行预处理,再比较 RMSEC, RMSECV, RMSEP 和 R^2 的不同,由表 2 得 SD + SNV + SG 处理的建模效果最好。

表 2 不同光谱预处理方法对建模的影响

| 光谱预处理方法 | 相关系数 R^2 | 校正 均方差 RMSEC | 内部交叉 验证均方 RMSECV | 预测 均方差 RMSEP |
|------------------------------|---------------|--------------------|------------------------|--------------------|
| Spectrum + SG | 97.18 | 0.511 | 0.727 9 | 0.929 |
| Spectrum + ND | 96.56 | 0.563 | 0.690 6 | 0.515 |
| First Derivative + SG | 96.70 | 0.552 | 0.695 1 | 0.992 |
| First Derivative + ND | 96.56 | 0.563 | 0.690 6 | 0.915 |
| First Derivative + MSC + SG | 98.09 | 0.420 | 0.648 2 | 0.933 |
| First Derivative + MSC + ND | 97.39 | 0.492 | 0.671 7 | 0.973 |
| First Derivative + SNV + SG | 97.76 | 0.456 | 0.674 2 | 0.924 |
| First Derivative + SNV + ND | 96.41 | 0.575 | 0.693 2 | 1.020 |
| Second Derivative + SG | 94.48 | 0.710 | 0.782 2 | 1.130 |
| Second Derivative + ND | 97.07 | 0.520 | 0.669 0 | 0.752 |
| Second Derivative + MSC + SG | 98.94 | 0.314 | 0.765 0 | 0.837 |
| Second Derivative + MSC + ND | 96.33 | 0.581 | 0.697 9 | 0.859 |
| Second Derivative + SNV + SG | 99.05 | 0.297 | 0.737 2 | 0.819 |
| Second Derivative + SNV + ND | 96.39 | 0.576 | 0.701 9 | 0.870 |

2.3 建模波段的选择 在近红外光谱分析校正模型建立过程中,若采用全谱计算时,计算量很大。实际上,在某些光谱区域,样品的光谱信息很弱,与其样品指标性质间缺乏相关性。研究证明,选择适当的光谱区域,可以有效的提高预测模型的精度。因此,采用 TQ8.0 软件的自动优化功能,经过手动筛选的比较,再根据其二阶导数光谱图,最终确定最佳

建模波段为 5 000.00 ~ 8 000.00 cm^{-1} , 比较结果见表 3。图 2 为山茱萸在上述处理方法下近红外光谱的二阶导数图谱。

表 3 建模波段对模型的影响

| 光谱范围/ cm^{-1} | R^2 | RMSEC | RMSECV | RMSEP |
|------------------------|-------|-------|---------|-------|
| 4 000.00 ~ 11 998.13 | 95.16 | 0.666 | 1.278 1 | 1.800 |
| 4 000.00 ~ 8 000.00 | 97.74 | 0.458 | 0.708 3 | 0.889 |
| 5 000.00 ~ 8 000.00 | 99.05 | 0.297 | 0.737 2 | 0.819 |
| 5 000.00 ~ 7 000.00 | 97.18 | 0.510 | 0.728 3 | 0.829 |
| 6 000.00 ~ 8 000.00 | 95.81 | 0.616 | 1.001 9 | 1.090 |

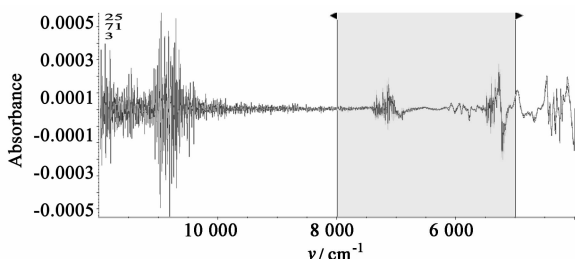


图 2 山茱萸在上述处理方法下近红外光谱的二阶导数图谱

2.4 主成分因子的选择 在建模过程中, PLS 模型采用不同的主因子数, 在一定的情况下主因子数越多会使信息量越大, 建模越好。因为主因子数越少会使模型所采用的信息量不全, 模型预测能力太低, 而如果主因子数过多会出现过拟合现象, 预测能力也是降低的。所以, 要选择合适的主因子数, 本实验用交互验证法, 以校正样品集 RMSECV 为优化参数, 选择最适主因子数。当 RMSECV 值最小时 (内部交叉验证均方差为 0.737 2), 主成分因子数最佳为 7。如图 3。

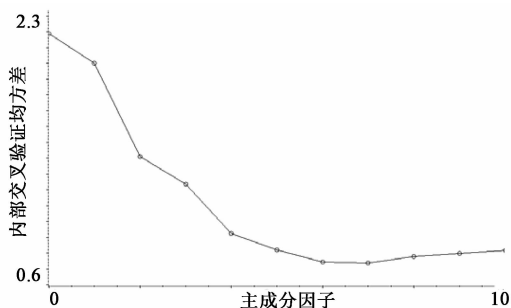


图 3 训练集 RMSECV 与主成分数之间的相关性

2.5 模型的建立 采用 TQ8.0 软件, 对近红外光谱进行 SNV + SD 预处理, 在 5 000.00 ~ 8 000.00 cm^{-1} 区段建模, 选择主因子数 7, 结合偏最小二乘法建立山茱萸中水分含量的近红外定量分析模型。该

模型的校正集相关系数 R^2 为 0.990 52, 交互验证均方根偏差 RMSEC 为 0.297, 预测均方根偏差为 0.819, 其结果如图 4, 5 所示。结果表明, 预测均方根偏差比较低, 预测值接近参考值。

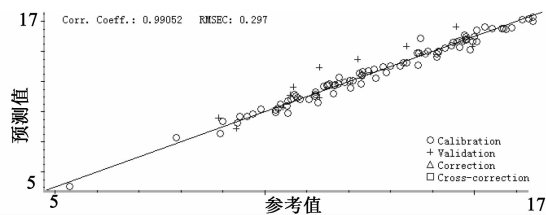


图 4 预测值与参考值之间的相关性

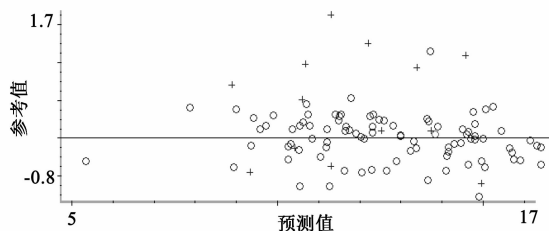


图 5 预测绝对误差与参考值相关性

2.6 水分定量模型的内部验证 将 13 份验证集样品的 NIR 图谱输入定量分析模型, 预测其水分含量, 并与其烘干法测得值进行比较, 结果见表 4。

表 4 NIR 预测值与烘干法测定值的比较 %

| No. | 参考值 | NIR 预测值 | 绝对偏差 | 平均回收率 |
|-----|-------|---------|-------|--------|
| 1 | 13.39 | 14.32 | 0.93 | |
| 2 | 8.9 | 9.6 | 0.7 | |
| 3 | 11.3 | 10.93 | -0.37 | |
| 4 | 14.96 | 14.36 | -0.6 | |
| 5 | 10.6 | 11.11 | 0.51 | |
| 6 | 13.74 | 13.84 | 0.1 | |
| 7 | 14.57 | 15.66 | 1.09 | 102.01 |
| 8 | 9.33 | 8.88 | -0.45 | |
| 9 | 10.69 | 11.66 | 0.97 | |
| 10 | 12.32 | 12.4 | 0.08 | |
| 11 | 11.67 | 11.82 | 0.15 | |
| 12 | 12.53 | 12.63 | 0.1 | |
| 13 | 10.43 | 10.29 | -0.14 | |

由表 4 知, 最大绝对偏差 1.09%, 以验证集样品的 NIR 预测值与 HPLC 测定值的比值作为预测回收率, 所得平均回收率 102.01%, 结果表明, 利用近红外光谱技术测定山茱萸中水分的含量是可行的。

2.7 统计学检验 将 13 个验证集样品 NIR 预测值与烘干法所测得的分析值进行配对 t 检验, 结果

$t = -1.516$, 双侧 $P = 0.155 > 0.05$, 按 $\alpha = 0.05$ 水准不拒绝 H_0 , 即说明两种方法的分析结果差别无统计学意义, 表明该模型可用于预测其覆盖范围内的山茱萸中水分含量。

3 结论

在扫描近红外光谱时, 为了尽量减少每次测量的系统误差, 需进行仪器自检, 观察测量环境, 所有样品的光谱采集条件一致, 确保测定条件的稳定性, 且要每个样品扫描 3 次, 取平均值作为样品的近红外光谱。

通过对不同的建模参数进行优化, 得出最佳的光谱处理条件是 Second Derivative + SNV + SG, 光谱区段是 $5\ 000.00 \sim 8\ 000.00\ \text{cm}^{-1}$, 最佳主因子数是 7, 模型的校正集相关系数 R^2 为 0.990 52, 交互验证均方根偏差 RMSEC 为 0.297, 预测均方根偏差为 0.819, 所建模型的预测结果较接近理论值。说明利用近红外光谱技术测定山茱萸药材中水分的含量是可行的。

建模过程中建模样品的收集和准备非常重要。一般来讲, 标准样品中的各种成分的含量范围和其他性质必须涵盖所有可能遇到的样品中各组分的含量范围, 且要尽可能分布均匀。由于中药是组成复杂的天然产物, 无法控制其中各组分含量的样品, 只能通过收集足够多的样品以尽量涵盖实际分析中可能遇到的各种样品。因此, 校正模型集样本的数量仍需进一步扩大, 完善模型。

中药材生长的环境不同, 致使其水分及其他内在成分有所差异, 本研究能够为中药山茱萸的质量控制研究提供一种有效的研究途径和思路。

[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: 26.

- [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): 6.
- [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, 李珊, 王星, 等. 近红外光谱法快速测定金银花中绿原酸的含量[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(5): 66.
- [5] 龚海燕, 宋瑞丽, 李珊, 等. 近红外光谱结合一致性检验对铁棍山药的鉴别研究[J]. 计算机与应用化学, 2010, 27(7): 967.
- [6] 涂瑶生, 柳俊, 孙冬梅, 等. 近红外漫反射光谱法用于白芍配方颗粒原料药材质量控制的研究[J]. 中国中药杂志, 2011, 36(9): 1162.
- [7] 韩吴琦, 黄永丽, 郭兴辉. 近红外光谱鉴别法在中成药领域应用之初探[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(22): 166.
- [8] 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.
- [9] 范茹军, 秦晓晔, 宋岩, 等. 基于近红外光谱的淫羊藿定性鉴别及定量检测[J]. 中国实验方剂学杂志, 2010, 16(13): 85.
- [10] 唐进法, 王星, 曹占霞, 等. 近红外光谱法测定柴胡药材中柴胡皂苷 A 含量[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(17): 138.
- [11] 周旻, 王天志, 叶利明, 等. 近红外漫反射光谱法测定川产黄柏中小檗碱含量[J]. 光谱学与光谱分析, 2007, 27(8): 1527.
- [12] 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.
- [13] 万楷杨, 高慧敏, 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.

[责任编辑 顾雪竹]