

近红外光谱法快速测定逍遥丸(浓缩丸)中水分含量

雷敬卫, 李小庆, 白雁*, 张强, 樊明月
(河南中医学院, 郑州 450046)

[摘要] **目的:**应用近红外光谱法建立一种逍遥丸(浓缩丸)中水分含量的快速测定方法。**方法:**利用烘干法测定样品中水分含量,并以其作为参考值,运用偏最小二乘法(PLS)建立水分含量与近红外光谱之间的多元校正模型,对未知样品进行含量预测。**结果:**所建水分定量分析模型的相关系数(R^2),校正均方差(RMSEC),预测均方差(RMSEP)分别为 0.953 52, 0.132, 0.177。**结论:**方法操作简便,无污染,结果准确可靠,可用于逍遥丸(浓缩丸)中水分含量的快速测定。

[关键词] 近红外光谱法; 偏最小二乘法; 逍遥丸(浓缩丸); 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(2013)19-0132-04

[doi] 10.11653/syjf2013190132

Rapid Determination of Moisture in Xiaoyao Pills (Condensed) by Near-infrared Spectroscopy

LEI Jing-wei, LI Xiao-qing, BAI Yan*, ZHANG Qiang, FAN Ming-yue
(Henan University of Traditional Chinese Medicine, Zhengzhou 450046, China)

[Abstract] **Objective:** To establish a rapid analytical method for moisture in Xiaoyao pills (condensed) by near-infrared spectroscopy. **Method:** The near-infrared spectral data of 97 samples were collected by Nicolet 6700 NIR spectroradiometer, and the data of moisture content were obtained by oven-drying method. Then, the multivariate calibration model for moisture was established by partial least square (PLS) with oven-drying method analysis values as reference, and predicting the moisture content of unknown samples. **Result:** The correlation coefficients (R^2) of the quantitative calibration model for moisture was 0.953 52, the root-mean-square error of calibration (RMSEC) was 0.132, the root-mean-square error of prediction (RMSEP) was 0.177. **Conclusion:** The method is simple, non-polluted, accurate, which could be applied for the fast determination of moisture in Xiaoyao pills (condensed).

[Key words] near-infrared spectroscopy; partial least square; xiaoyao pills (condensed); moisture; rapid determination

逍遥丸(浓缩丸)是由柴胡、当归、白芍、白术、茯苓、薄荷、生姜、甘草组成的中药制剂,具有疏肝解郁、养血调经之功效^[1],现临床上多用于肝气不舒、月经不调等症。水分检查是药品检验的一种常规检查项目,控制水分的含量与保证药品质量有着密切

的关系。逍遥丸作为一种常用中成药,鲜有报道其水分含量。传统的水分测定法有烘干法和甲苯法,这 2 种测定方法均耗时较长且破坏样品。因此寻找一种新的快速、灵敏、成本低、不污染环境的水分测定法很有必要。近红外光谱分析技术是 20 世纪 80

[收稿日期] 20120329(008)

[基金项目] 河南省重大公益科研项目(081100912500);河南省杰出人才项目(084200510017)

[第一作者] 白雁,教授,从事中药品质分析和评价研究, Tel:0371-65906659, E-mail:727110429@qq.com

[通讯作者] *雷敬卫,博士,副教授,从事中药资源及质量分析研究, Tel:0371-65575596, E-mail:1052994194@qq.com

年代后期迅速发展起来的一种检测方法,不需对样品进行复杂的预处理就可直接进行测试,具有方便、快速、无污染的优点^[2],本试验将近红外光谱(NIRS)与偏最小二乘法(PLS)相结合,建立逍遥丸中水分定量模型,为逍遥丸(浓缩丸)中水分测定提供一种快速、简便的分析方法。

1 材料

美国 Thermo Nicolet 公司 6700 型傅立叶变换近红外光谱仪(配有漫反射积分球附件、OMNIC 光谱采集软件和 TQ8.0 光谱分析软件),METTLER TOLEDO AL204 型 1/万分析天平(梅特勒-托利多仪器上海有限公司),CS101-2D 型电热鼓风干燥箱(上海实验仪器厂有限公司),SZ-93 型自动双重水蒸馏器(上海亚荣生化仪器厂)。

水为双蒸水,样品为河南宛西制药股份有限公司生产的 97 份不同批号的逍遥丸(浓缩丸),样品信息见表 1。

2 方法

2.1 逍遥丸(浓缩丸)近红外光谱的采集 将 97 份逍遥丸(浓缩丸)样品研碎过 80 目筛,每份样品取约 8 g,混合均匀后放入石英样品杯中,摊平,然后以空气为参比,扣除背景,采集光谱图。采样积分球漫反射方式,采集光谱范围 4 000 ~ 12 000 cm^{-1} ,分辨率 8 cm^{-1} ,扫描 32 次,温度(25 ± 2) °C,相对湿度 45% ~ 50%。每份样品扫描 3 次,求平均值作为样品的 NIR 光谱,见图 1。

2.2 逍遥丸(浓缩丸)中水分测定 采用《中国药典》2010 年版附录 IX H 水分测定法中第一法“烘干法”^[3]进行测定。为尽量减少分析误差,每个样品平行做 2 份,求平均值作为样品的烘干法分析值。按药典规定浓缩丸含水量应不得超过 9.0%^[3]。97 份样品的水分含量分布见图 2,由图可知,97 份样品的水分含量均在药典规定的范围内,且含量分布符合一定的梯度分布及建模要求。

2.3 建立定量模型的方法 根据水分含量分布,按照 4:1 的比例划分校正集和验证集,选取验证集时,要保证验证集样品含量范围处于校正集样品含量范围之内^[4],且校正集样品能代表组分的浓度信息。以 TQ8.0 定量分析软件对以上数据进行处理,筛选,建立模型,所建模型用相关系数(R^2)和内部交叉验证均方差(RMSECV)来评价, R^2 越接近于 1, RMSECV 越小,表明模型结构越合理其预测能力可通过预测均方差(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^[5]。

表 1 97 份样品信息

No.	批号	No.	批号	No.	批号	No.	批号
1	70116	26	81119	51	90401	76	90611
2	70117	27	81120	52	90403	77	90612
3	70118	28	81121	53	90404	78	90614
4	70119	29	81123	54	90408	79	90616
5	70120	30	81201	55	90409	80	90617
6	70121	31	81202	56	90410	81	90618
7	70122	32	81203	57	90411	82	90620
8	70123	33	81204	58	90413	83	90621
9	70124	34	81205	59	90415	84	90808
10	70125	35	81208	60	90421	85	90809
11	70127	36	81209	61	90423	86	90813
12	70128	37	81210	62	90424	87	90816
13	70129	38	81213	63	90425	88	90817
14	70130	39	81214	64	90425	89	90818
15	70131	40	81217	65	90527	90	90821
16	70132	41	81221	66	90528	91	90822
17	70133	42	81222	67	90529	92	90823
18	70202	43	90127	68	90530	93	90825
19	70207	44	90202	69	90533	94	90826
20	81109	45	90205	70	90534	95	90827
21	81111	46	90212	71	90601	96	90918
22	81112	47	90328	72	90602	97	90920
23	81116	48	90329	73	90603		
24	81117	49	90330	74	90604		
25	81118	50	90331	75	90610		

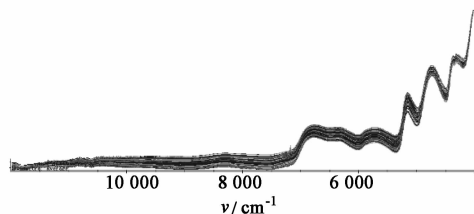


图 1 97 份样品的近红外叠加图谱

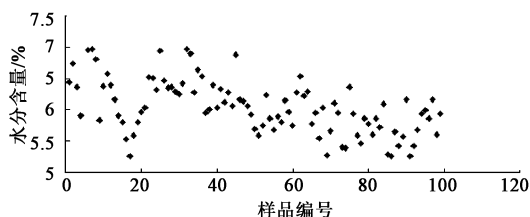


图 2 97 份逍遥丸的水分含量分布

预处理方法对 R^2 和 RMSECV 的影响如表 2 所示。由于多元散射校正 (MSC) 可以去除近红外漫反射光谱中样品的镜面反射及不均匀造成的噪声,一阶导数可以消除样品颜色及基线漂移等影响,从而强化谱带特征^[6]。通过比较最终确定多元散射校正 (MSC) + 一阶导数的预处理方法效果最好。

表 2 不同处理方法的建模

光谱预处理方法	R^2	RMSECV
标准归一化 + 一阶导数	0.953 38	0.308 42
多元散射校正 + 一阶导数	0.953 52	0.308 34
二阶导数	0.850 48	0.358 60
多元散射校正 + 二阶导数	0.950 38	0.382 58
标准归一化 + 二阶导数	0.950 43	0.381 99

尽管用偏最小二乘法可以处理全谱信息,但由于所测指标性成分不同,成分的结构也不同,因此需要选择不同的波段,以改善建模的性能,获得最佳的预测效果^[7]。近红外在 3 700 ~ 7 500 cm^{-1} 主要由倍频和合频峰组成,信号强度高,信息丰富,而水分子中 O-H 键在近红外谱区有 2 个特征谱带:伸缩振动的一级倍频约在近红外区 1 440 nm (6 944 cm^{-1}),其合频吸收带在 1 940 nm (5 155 cm^{-1})^[8]。因此,在建模时手动选择最佳波段,辅以 R^2 , RMSECV 作为模型性能的评价指标,最终确定 3 999.64 ~ 7 241.27 cm^{-1} 为最佳波段,如表 3 所示。

表 3 建模波段对模型的影响

光谱范围/ cm^{-1}	R^2	RMSECV
3 999.64 ~ 7 241.27	0.953 52	0.308 34
4 022.78 ~ 7 122.93	0.953 13	0.310 50
4 007.95 ~ 10 653.25	0.945 22	0.35712
5 046.27 ~ 7 139.54	0.923 66	0.330 66
6 043.07 ~ 8 958.70	0.883 09	0.383 15

试验采用 PLS 建立定量分析模型,主成分数对模型的预测能力有非常大的影响。主成分数太多,使模型包含过多的测量噪音,出现过拟合现象,主成分数过少,导致建模信息不全,模型预测能力差。因此,本实验采用内部交叉验证法筛选主成分数,内部交叉验证均方差 (RMSECV) 值最小时,所选主成分数最佳^[9]。如图 3 所示,最佳主成分数为 9。

3 结果与分析

3.1 水分定量模型的建立 以 2.3 项下的近红外定量模型参数为依据,最终确定对样品光谱进行多元散射校正 (MSC) + 一阶导数处理,在 3 999.64 ~

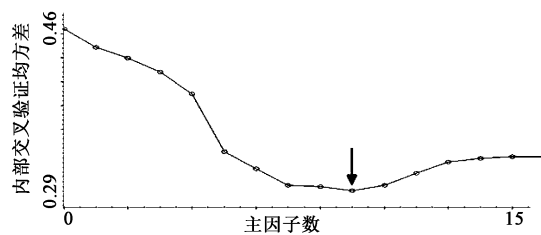


图 3 RMSECV 随主因子数的变化

7 241.27 cm^{-1} 选择前 9 个主成分数建立最优模型,见图 4,5,该模型的相关系数 (R^2) 为 0.953 52,校正均方差 (RMSEC) 为 0.132,预测均方差 (RMSEP) 为 0.177,表明该模型的性能较好。

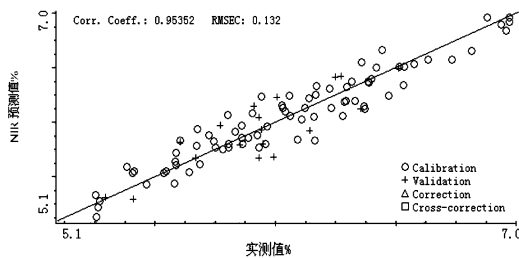


图 4 近红外预测值与实测值相关性

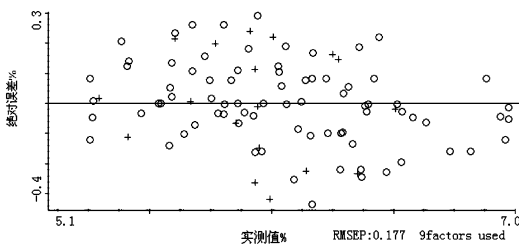


图 5 近红外预测绝对误差与实测值相关性

3.2 模型的外部验证 为评价模型的实际预测效果,将 18 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。其预测结果见表 4。

由表 4 可知,预测集的最大绝对误差 0.318%,最小绝对误差 0.006%,18 份验证集样品的相对误差均不超过 5.310%,平均相对误差为 2.520 6%。可见近红外预测值与真实值比较接近,所建模型准确、可靠。将验证集样品的烘干法测得值与 NIR 预测值进行配对 t 检验,结果 $t = 0.106$, $P = 0.917 > 0.05$,即烘干法与 NIR 测得值的差异无统计学意义,该模型评价性能好,预测结果较为准确,可以准确预测其含量范围内的逍遥丸 (浓缩丸) 中的水分含量。

4 讨论

曾对样品颗粒度进行考察,结果发现过 40,60,

表4 18批预测集样本的近红外模型预测值

No.	实际相对百分含量	预测相对百分含量	绝对误差	相对误差	平均相对误差
4	5.912	6.151	0.239	4.042	
23	6.510	6.491	-0.019	0.292	
27	6.354	6.120	-0.234	3.687	
30	6.250	6.413	0.163	2.606	
38	6.007	6.228	0.221	3.683	
43	6.274	6.420	0.146	2.335	
54	5.855	5.790	-0.065	1.114	
58	6.144	5.918	-0.226	3.675	
65	5.771	5.967	0.196	3.389	2.520 6
66	5.943	5.932	-0.011	0.181	
70	5.668	5.674	0.006	0.100	
72	5.949	5.799	-0.150	2.527	
76	5.932	5.672	-0.260	4.378	
81	5.604	5.818	0.214	3.824	
85	5.293	5.309	0.016	0.307	
88	5.410	5.299	-0.111	2.056	
94	5.932	6.043	0.111	1.865	
95	5.994	5.676	-0.318	5.310	

80,100目的样品粉末中,粒度越小,近红外光谱的重复性越好,即过100目的重复性最好,但是考虑到逍遥丸(浓缩丸)质地坚硬,过100目筛不容易操作,且处方中含有饴糖,粉碎粒度过细不易保存,故选用80目。

建模样品集基础数据测量的准确性决定了所建模型的准确性和预测能力。逍遥丸(浓缩丸)尚未收载入2010年版《中国药典》,部颁标准中对于逍遥丸(浓缩丸)中水分的测定只说明按丸剂项下测定,未明确指定用哪一种方法。逍遥丸(浓缩丸)中含挥发性成分,而药典附录IX H水分测定法第一法“烘干法”中未明确“少含挥发性成分”的概念及具体衡量尺度,致使测定逍遥丸(浓缩丸)含水量时无法确定用烘干法还是甲苯法。因此,试验过程中同时用甲苯法和烘干法测了16份逍遥丸(浓缩丸)样品的含水量并对其进行统计分析,配对 t 检验结果,

$t = -1.558, P = 0.140 > 0.05$,按 $\alpha = 0.05$ 标准不能拒绝 H_0 ,即2种方法的分析结果差异无统计学意义。由于甲苯法操作繁琐且甲苯有剧毒,易污染环境,因此,试验采用烘干法。

建立近红外模型必须选用大量的有代表性的样品,样品的指标性成分含量要尽量宽,且要分布均匀,实验中所建水分定量校正模型相关系数(R^2)为0.953 52,预测均方差(RMSEP)为0.177,能够实现其覆盖范围内大批量样品的快速检测,但试验所用样品时间跨度从2007~2009年,要建立实用性更强的模型,还需继续收集2010年至今的样品,充实模型,以完善此模型。

[参考文献]

- [1] 庄秋虹. 高效液相色谱法测定逍遥丸中芍药苷的含量[J]. 海峡药学, 2004, 16(2): 50.
- [2] 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.
- [3] 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; 附录5, 附录52.
- [4] 章顺楠, 杨海雷, 刘占强, 等. 近红外光谱法在线检测复方丹叁滴丸剂液中有效成分含量[J]. 药物分析杂志, 2009, 29(2): 192.
- [5] 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.
- [6] 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, 2007: 44, 194.
- [7] 白雁, 史会齐, 龚海燕, 等. 近红外光谱法测定不同厂家六味地黄丸中丹皮酚[J]. 中国实验方剂学杂志, 2010, 16(17): 63.
- [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: 15.
- [9] 李岩梅, 国警月, 陈庆先, 等. 近红外漫反射光谱法非破坏分析颠茄粉末药品质量[J]. 生命科学仪器, 2009, 8(2): 50.

[责任编辑 顾雪竹]