

DOI:CNKI:11-3495/R. 20110321. 1132. 004

· 化学与分析 ·

近红外漫反射光谱法快速测定苦参和白土苓药材的水分

万楷杨^{1,2,3}, 高慧敏^{1,3}, 张启伟^{1,3}, 王智民^{1,3*}

(1. 中国中医科学院 中药研究所, 北京 100700; 2. 河南中医学院 药学院, 郑州 450008;
3. 中药质量控制技术国家工程实验室, 北京 100700)

[摘要] 目的:利用近红外(NIR)光谱技术建立一种快速测定苦参及白土苓药材水分的方法。方法:以《中国药典》水分测定法中的烘干法测定不同苦参及白土苓药材含水量,采用偏最小二乘回归方法(PLS)分别建立两种药材的近红外光谱与含水量之间的相关模型,并利用内部交叉验证和外部验证的方法对模型进行优化。结果:2个模型的校正集内部交叉验证决定系数(R^2)均在0.97以上,内部交叉验证均方差(RMSECV)均在0.0019以下;2个模型的验证集外部验证 R^2 均在0.99以上,预测误差均方根(RMSEP)均在0.0022以下。结论:近红外漫反射光谱法具有快速、无损、准确的特点,能满足工业生产上对于原料药材水分含量测定的要求,可推广应用于药材含水量的快速测定。

[关键词] 近红外漫反射光谱;白土苓;苦参;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(2011)10-0056-04

Rapid Determination of Moisture Content in Rhizoma Heterosmilacis Japonicae and Radix Sophorae Flavescentis with Near-infrared Diffused Reflection Spectroscopy

WAN Kai-yang^{1,2,3}, GAO Hui-min^{1,3}, ZHANG Qi-wei^{1,3}, WANG Zhi-min^{1,3*}

(1. Institute of Chinese Materia Medica, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100700, China;
2. Henan University of Traditional Chinese Medicine, Zhengzhou 450008, China;
3. National Engineering Laboratory for Quality Control Technology of Chinese Herbal Medicines, Beijing 100700, China)

[Abstract] **Objective:** To develop a rapid NIR method for determination of moisture content in Rhizoma Heterosmilacis Japonicae and Radix Sophorae Flavescentis. **Method:** The NIR spectra of the sample powders were measured in a diffused reflection mode. The correlation models between the NIR spectra and the reference values of moisture content in two herbs were obtained with partial least squares method and optimized through inner cross validation and external validation. **Result:** The determination coefficients of inner cross validation of the two models were both above 0.97 and the RMSECV were both below 0.0019. The determination coefficients of external validation of the two models were both above 0.99 and the RMSEP were both below 0.0022. **Conclusion:** The presented method is timesaving, convenient and accuracy, which could be applied for the rapid detection of the moisture content in the raw medicinal materials.

[收稿日期] 20110103(005)

[基金项目] 科技部重大科技专项“重大新药创制”项目(2008ZX09202-009, 2009ZX09301-005, 2009ZX09308-003)

[第一作者] 万楷杨, 硕士, 研究方向: 中药化学

[通讯作者] *王智民, 博士, 研究员, 研究方向: 中药化学和中药质量控制, Tel/Fax: 010-84014128; E-mail: zhmw123@263.net

[网络出版时间] 2011-03-21 11:32

[Key words] near infrared diffuse reflectance spectroscopy; Rhizoma Heterosmilacis Japonicae; Radix Sophorae Flavescentis; moisture content; rapid determination

中成药用原料药材或饮片在收购、验收、入库、投料过程中存在着成分检验繁杂,工作量巨大等问题。为解决该问题,有必要研发涵盖指标成分、水分等不同检查项目的快速检测方法作为企业内控标准,与法定标准一起构建普适性强、准确、便捷的中药原料质量保障系统。为了探索其可行性,作者首先以药材的水分测定为对象建立快速且通用的检测方法。

近年来迅速发展的近红外(NIR)光谱分析技术具有快速、无损、准确等特点,已在农业、烟草、石油化工、医药等各领域得到了广泛的应用^[1]。文献^[2-5]报道采用NIR法测定中药半成品、中成药及化学药品的含水量,为中药材入库标准的水分测定提供了可行性。为了探索该方法的技术适应性,本文以中成药大品种复方苦参注射液(2009年的销售额近6亿元)的原料药(苦参和白土苓)为示范性研究对象,建立NIR技术快速测定水分的方法。

1 材料

MPA型傅立叶变换近红外光谱仪和与其配套的OPUS数据处理软件(布鲁克公司);电热鼓风干燥箱(上海一恒科学仪器有限公司);50 g手提式高速中药粉碎机DFT-50;塞多利斯BS-210S 1/万电子天平。66批白土苓药材和61批苦参药材由山西振东药业有限公司提供。

2 方法与结果

2.1 原料药水分的测定 采用2010年版《中国药典》一部附录IX H水分测定法中的烘干法进行测定,测得的数值作为白土苓及苦参药材含水量的真实值。

2.2 NIR光谱的采集 将收集到的白土苓和苦参药材粉碎过筛(苦参过60目筛,白土苓过80目筛),混匀,取适量粉末置于样品杯中,按下述实验条件进行扫描:测样方式为积分球漫反射模式,分辨率为 8 cm^{-1} ,扫描次数为64次,扫描范围为 $12\ 000\sim 4\ 000\text{ cm}^{-1}$ 。样品的装样厚度、装填的紧密性和颗粒均匀性等实验中力求一致,以减小对实验结果的影响。66份白土苓和61份苦参样品的NIR原始光谱图分别如图1及图2所示。

2.3 建立原料药材水分的NIR光谱定量分析模型

2.3.1 校正集和验证集样品的选择 按含水量高

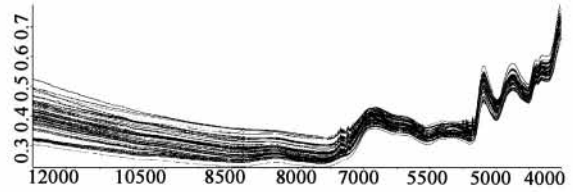


图1 白土苓药材的NIR光谱

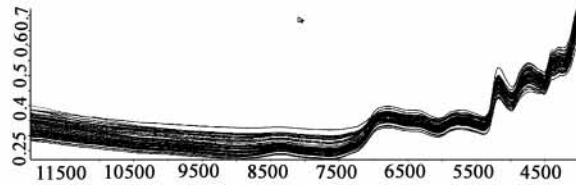


图2 苦参药材的NIR光谱

低均匀选取样本组成校正集,用于建立校正模型,剩余样本为验证集,用于对模型进行外部验证,在样本集划分时保证校正集样本含水量范围大于验证集。校正集和验证集的样品含水量分布范围见表1。

表1 校正集与验证集样品数量及其含水量分布

	白土苓	苦参
校正集样品量	54	50
校正集含水量范围(%)	6.02~10.41	4.94~8.65
验证集样品量	12	11
验证集含水量范围(%)	6.14~10.26	5.19~8.28

2.3.2 建模波段的选择 水分子中O-H键在近红外光谱区有两个特征谱带:1 940 nm(组合频)和1 440 nm(OH伸缩振动的一级倍频),由于O-H键不对称性极大,其一级倍频强度较强^[6],以此为参考对建模所用谱区进行选择和优化,选用波段的范围由于分析对象不同可能会有所不同,但最好包括这两个特征谱带。 R^2 为校正集内部交叉验证决定系数,其值越接近1,说明模型预测越准确;RMSECV为校正集内部交叉验证均方差,其值越小说明模型的预测精度越高^[7],由表2及表3可知,白土苓药材水分校正模型的最佳波段 $8\ 501.2\sim 4\ 798.3\text{ cm}^{-1}$,苦参药材含水量校正模型的最佳波段范围 $7\ 502.1\sim 6\ 098.1\text{ cm}^{-1}$, $5\ 450.1\sim 4\ 246.7\text{ cm}^{-1}$ 。

表2 不同光谱范围对白土苓水分定量模型 R^2 和RMSECV的影响

光谱范围/ cm^{-1}	R^2	RMSECV
11 995.7~4 000	0.967 4	0.002 1
8 501.2~4 798.3	0.976 0	0.001 8
11 995.7~8 497.3, 5 396.1~6 800.1	0.891 4	0.003 9

表 3 不同光谱范围对苦参含水量定量模型 R^2 和 RMSECV 的影响

光谱范围/ cm^{-1}	R^2	RMSECV
11 995.7 ~ 4 246.7	0.973 0	0.001 6
7 502.1 ~ 6 098.1, 5 450.1 ~ 4 246.7	0.983 3	0.001 3
6 102 ~ 5 446.3, 4 601.6 ~ 4 246.7	0.801 1	0.004 3

2.3.3 光谱预处理方法的选择 在 NIR 光谱采集过程中,由于仪器状态、样品状态与测量条件的差异,使得光谱中往往包含了一些与待测样品性质无关因素带来的干扰,导致近红外光谱的基线漂移和光谱的不重复,因此需要对原始光谱进行预处理,以消除影响,改善模型性能。以内部交叉验证决定系数(R^2)和交叉验证误差均方差(RMSECV)为指标,比较了 OPUS 软件中的不同光谱预处理方法,包括无光谱处理、消除常数偏移量、矢量归一化、多元散射校正、一阶导数、二阶导数及多种处理方法相结合的方法,选择最佳预处理方法。由表 4 可知,白土苓药材水分校正模型的最佳预处理方法为消除常数偏移;苦参药材含水量校正模型的最佳预处理方法为一阶导数。

表 4 不同预处理方法对 R^2 和 RMSECV 的影响

光谱预处理方法	白土苓		苦参	
	R^2	RMSECV	R^2	RMSECV
无光谱预处理	0.973 1	0.001 9	0.979 4	0.001 4
消除常数偏移	0.976 0	0.001 8	0.980 1	0.001 4
矢量归一化	0.956 5	0.002 5	0.970 1	0.001 7
一阶导数	0.964 4	0.002 2	0.983 3	0.001 3
二阶导数	0.962 2	0.002 3	0.974 2	0.001 6
多元散射校正	0.962 5	0.002 3	0.974 8	0.001 5
一阶导数 + MSC	0.955 4	0.002 5	0.974 4	0.001 6

2.3.4 模型的建立及评价 光谱数据经谱区选择和预处理后,应用 Bruker OPUS/QUANT-2 定量分析软件,采用偏最小二乘法(Partial Least Square, PLS)将校正集样品的 NIR 光谱与其水分进行关联,分别建立白土苓和苦参药材 NIR 光谱与水分之间的定量校正模型。图 3,4 为校正集 RMSECV 与主因子数之间的相关图,由图可知,当白土苓和苦参定量校正

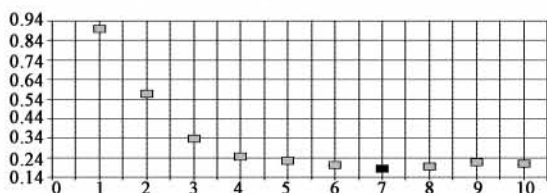


图 3 白土苓药材校正集 RMSECV 与主因子数之间的相关图

模型主因子数分别为 7 和 9 时,可使校正集 RMSECV 最小,确定最佳主成分数分别为 7 和 9。图 5,6 分别为白土苓和苦参药材校正集样品交叉验证后得到的 NIR 预测值与水分真实值的相关图,结果表明白土苓和苦参药材 NIR 光谱与其含水量之间存在较好的相关性。

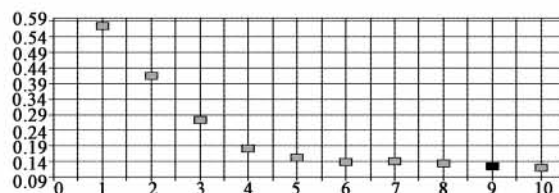


图 4 苦参药材校正集 RMSECV 与主因子数的相关

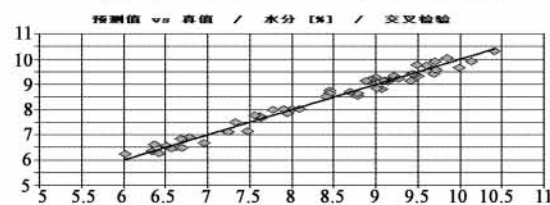


图 5 白土苓药材校正集中含水量预测值与实测值的相关

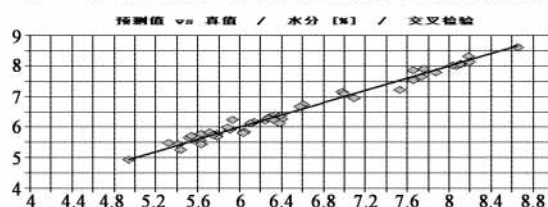


图 6 苦参药材校正集中含水量预测值与实测值的相关

采用上述最优化模型预测验证集样品中含水量,并将其与真实值进行比较,结果表明 NIR 光谱预测值与药典法实测值之间相关性良好。两药材验证集预测值与真实值的关系见图 7,8。

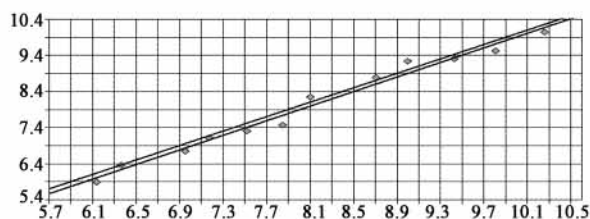


图 7 白土苓药材验证集含水量预测值与实测值的相关

所建模型的拟合效果、交叉验证及外部验证结果列于表 5 中。从表 5 数据可以看出,验证集样品的含水量均能得到较为准确的预测,结果较为满意。

2.3.5 精密度考察 取同一份样品粉末重复 6 次扫描其 NIR 光谱,输入 NIR 光谱分析模型计算含水

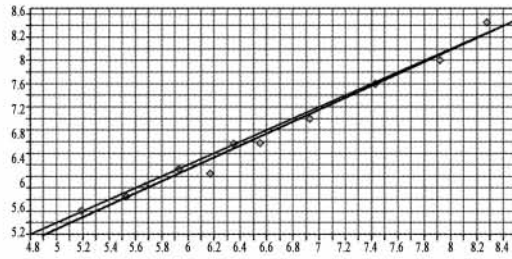


图8 苦参药材验证集含水量预测值与实测值的相关

表5 水分含量校正模型的各项性能参数

药材	主因子数	校正		交叉验证		外部验证	
		R^2	RMSEC	R^2	RMSECV	R^2	RMSEP
白土苓	7	0.984 3	0.001 6	0.976 0	0.001 8	0.990 4	0.002 1
苦参	9	0.993 3	0.000 9	0.983 3	0.001 3	0.992 8	0.001 4

注: R^2 为决定系数, RMSEC,校正集均方根偏差, RMSECV为交叉验证均方差, RMSEP为预测误差均方根。

量,结果表明白土苓样品含水量 RSD 0.24%,苦参样品含水量 RSD 0.81%,说明仪器精密度高。

2.3.6 重复性考察 分别取同一样品6份,分别扫描其 NIR 光谱,利用所建模型计算含水量,白土苓样品含水量 RSD 1.1%,苦参样品含水量 RSD 1.2%,表明该方法重复性良好。

3 结论

本文首次建立了 NIR 技术快速测定苦参和白土苓药材中水分的分析方法。方法选用了包含水分特征吸收波长的光谱区间,根据不同的测试对象优选出合适的预处理方法对 NIR 原始光谱进行预处理,采用 PLS 方法建立了水分的定量校正模型。

NIR 分析技术是间接分析方法,在建立模型时样品标准值的准确度与采集光谱图的条件是影响模型预测准确度的重要因素。因此,对样品进行水分测定时,每批次样品平行测定2份,测定结果相对偏差小于3%,以2次含水量的平均值做为样品含水量的实测值;采集光谱图时,每份样品平行扫描3次,取平均光谱,以确保所建定量分析模型的准确度。此外,进行波段选择时包含水分特征吸收谱带的模型参数明显优于不包含水分特征吸收谱带的模型参数,故运用 NIR 技术测定水分时,应考虑水分的特征吸收谱带作为建模波段。

本实验建立的方法分析时间短,结果预测准确,定量模型的建立与考察可作为中药材水分定量分析的一般规律。实际应用中,由于药材的水分受环境因素影响较大,尚需根据实际情况增加校正集样品

的数量以提高模型的稳健性。

NIRS 法具有快速、无损、准确的特点,能满足生产中对于中药材水分检测的要求,适用于大量中药材水分的快速测定,对于保证中药制剂终产品稳定具有现实意义,适合在原药材质量控制过程中使用,是一种值得推广的绿色分析方法。

[致谢]浙江大学药学院瞿海斌教授在实验和论文撰写过程中给予指导。

[参考文献]

- [1] 刘建学.实用近红外光谱分析技术[M].北京:科学出版社,2008.
- [2] 聂黎行,王钢力,李志猛,等.近红外光谱法在乌鸡白凤丸半成品质量控制中的应用[J].中成药,2009,31(7):1055.
- [3] 刘伟,范可青,包艳春,等.运用车载近红外光谱仪测定六味地黄丸水分[J].中国药事,2008,22(8):703.
- [4] Dunko A, Dovletoglou A. Moisture assay of an antifungal by near-infrared diffuse reflectance spectroscopy [J]. Pharm Biomed Anal, 2002,28:145.
- [5] Zhang X B, Feng Y C, Hu C Q. Feasibility and extension of universal quantitative models for moisture content determination in beta-lactam powder injections by near-infrared spectroscopy[J]. Anal Chim Acta, 2008, 630:131.
- [6] 陆婉珍.现代近红外光谱分析技术.第2版[M].北京:中国石化出版社,2007:31.
- [7] 王星,白雁,陈志红,等.近红外光谱法测定连翘中连翘酯苷含量[J].中国中药杂志,2009,34(16):2073.

[责任编辑 蔡仲德]