

王海霞,周文婷,林 萍,等. NIRS 在广金钱草水分含量测定中的应用[J]. 江苏农业科学,2014,42(7):324-326.

# NIRS 在广金钱草水分含量测定中的应用

王海霞,周文婷,林 萍,卢慧娟,姬生国

(广东药学院中药学院,广东广州 510006)

**摘要:**研究并建立近红外光谱技术在广金钱草药材水分含量的测定方法。利用烘干法测定试验样品的水分含量,并采集近红外光谱数据,采用一阶导数法预处理,结合偏最小二乘法建立广金钱草中水分含量的定量分析模型。结果表明:所建立的校正模型,内部交叉验证决定系数达到 0.970,校正均方差为 0.254,预测均方差为 0.278,内部交叉验证均方差为 0.582。验证集重复性标准偏差为 0.069,平均回收率为 99.96%, $t$  检验显示  $P > 0.05$ ,精密性及重复性  $RSD$  分别为 1.23、1.45%, $RPD > 3$ 。建立的广金钱草药材水分含量测定的近红外光谱模型稳定、准确、可靠,适用于对广金钱草药材的水分含量测定。

**关键词:**广金钱草;含水量;近红外光谱;方法学考察; $t$ -检验

**中图分类号:**0657.33;R284.2 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2014)07-0324-03

广金钱草 [*Desmodium styracifolium* (Osb.) Merr.] 为豆科植物,以干燥地上部分入药,为“十大广药”之一,收载于 2010 年版《中国药典》。广金钱草主产于广西、广东、海南 3 省(区),其性甘,味淡、凉,具有清热利湿、通淋排石之功效。对于广金钱草的质量评价,2010 年版《中国药典》规定了水分、灰分、浸出物及有效成分的含量等要求,其中水分要求不得超过 12%。但药典中水分测定的方法采用的是传统的烘干法,该方法费时费力,比较繁琐。近年来近红外光谱法在中药材水分含量测定中的应用处于起步阶段,该方法较为准确、简便、快速,测定过程中无需对药材进行复杂处理。本课题组长

期以来利用近红外光谱技术对岭南道地药材进行研究,已经运用该技术成功对广陈皮<sup>[1-2]</sup>、广藿香<sup>[3-7]</sup>及枇杷叶<sup>[8]</sup>进行质量评价及定性鉴别。本研究介绍了利用该技术对广金钱草药材中水分含量的测定方法,以期寻找利用近红外光谱技术全面对广金钱草品质的评价方法。

## 1 材料与方法

### 1.1 药材

试验所用 110 批样品于 2013 年采集于广东省、海南省及广西壮族自治区,经广东药学院姬生国教授鉴定为豆科山蚂蝗属植物广金钱草。药材经干燥粉碎后过 50 目筛,保存于自封袋中,置于干燥器中备用。

### 1.2 仪器

傅立叶变换近红外光谱仪(Tensor37 型,Bruker 公司),电热鼓风恒温干燥器(Q/ZT153-1998,浙江正泰仪器仪表有限公司),十万分之一天平(AY120,日本岛津公司)。

收稿日期:2013-12-26

基金项目:广东省科技计划(编号:2009B030801044)。

作者简介:王海霞(1989—),女,硕士研究生,研究方向为中药质量控制。E-mail:wanghx200820@163.com。

通信作者:姬生国,男,博士,教授,主要从事中药资源、中药质量标准及中药新药研究。Tel:(020)39352327;E-mail:shengguo\_ji@163.com。

1.650  $\mu\text{g}$  范围内与峰面积呈良好的线性关系( $r=0.999\ 9$ ),平均回收率为 97.1%, $RSD$  为 1.1% ( $n=6$ );儿茶素进样量在 0.240~6.000  $\mu\text{g}$  范围内与峰面积呈良好的线性关系( $r=0.999\ 6$ ),平均回收率为 97.5%, $RSD$  为 1.5% ( $n=6$ );表儿茶素进样量在 0.252~6.300  $\mu\text{g}$  范围内与峰面积呈良好的线性关系( $r=0.999\ 7$ ),平均回收率为 96.9%, $RSD$  为 1.2% ( $n=6$ )。

RP-HPLC 方法操作简便,分离效果好,数据准确可靠,研究结果为茶叶中没食子酸、儿茶素和表儿茶素的定量分析及茶叶的质量控制提供了方法依据。

## 参考文献:

- [1] 宋立人,洪 恂,丁绪亮,等. 现代中药学大辞典:下册[M]. 北京:人民卫生出版社,2001:1489-1492.
- [2] 张国民,李平忠,孙 晶. 茶叶化学成分及研究现状[J]. 农业与技术,2012,32(5):226-226,230.

- [3] 姜守刚,蒋建勤,王建营,等. 茶多酚的提取分离和分析鉴定研究[J]. 药学进展,2005,29(2):72-77.
- [4] 刘作春,李玉山. 恩施绿茶多糖对糖尿病模型大鼠血糖的影响[J]. 现代预防医学,2009,36(7):1234-1235.
- [5] 陈建国,江月仙,来伟旗,等. 茶多糖对四氧嘧啶糖尿病小鼠调节血糖及其抗氧化作用的探讨[J]. 毒理学杂志,2009,23(4):299-301.
- [6] 孙志栋,顾富强,梁月荣,等. 茶多酚提取优化工艺研究[J]. 天然产物研究与开发,2007(19):490-493.
- [7] 康海宁,陈 波,韩 超,等. HPLC 法测定茶叶水提液中五种儿茶素和咖啡碱及其用于茶叶分类的研究[J]. 分析测试学报,2007,26(2):211-215,220.
- [8] 朱 旗,Clifford M N,毛清黎,等. LC-MS 分析普洱茶和茯砖茶与红茶成分的比较研究[J]. 茶叶科学,2006,26(3):191-194.
- [9] 张国民,廖予琦,王庆忠. HPLC 内标标准曲线法测定茶叶中 4 种儿茶素和咖啡因[J]. 昆明学院学报,2010,32(3):47-50.

1.3 水分含量的测定方法

取样品粉末 2~5 g,平铺于干燥至衡重的扁形称量瓶中,厚度不超过 5 mm,疏松样品不超过 10 mm,精密称定,打开瓶盖在 100~105 ℃干燥 5 h 后,将瓶盖盖好,移至干燥器中,冷却 30 min,精密称定;再在 100~105 ℃干燥 1 h,冷却,称重,至连续 2 次称重的差异不超过 5 mg 为止;以减失的质量除以药材粉末的加入量,即得该批药材中的水分含量。110 批样品中的水分含量范围为 5.10%~10.77%,且分布均匀,符合 2010 年版《中国药典》对广金钱草水分含量的规定。

1.4 近红外光谱的采集

取样品粉末 4 g,混合均匀后放入石英样品杯,轻轻振荡使其分布均匀。采用积分球漫反射测样,分辨率 8 cm<sup>-1</sup>;扫描 32 次;扫描范围 10 000~4 000 cm<sup>-1</sup>;温度(23±0.5)℃;相对湿度 35%~40%。每批样品重复装样并扫描 5 次,求平均光谱。

2 结果与分析

2.1 建模样品原始近红外光谱

110 批广金钱草样品,经“1.3”测定,含水量范围为 5.10%~10.77%。110 批样品的近红外光谱叠加图见图 1。

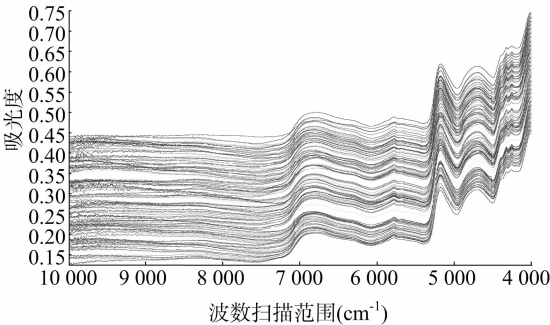


图1 110批广金钱草样品的近红外光谱叠加图

2.2 光谱预处理

常用的预处理方法包括一阶导数(first derivative)、二阶导数、多元散射校正、矢量归一化、最大-最小归一化等。光谱数据经过预处理后,采用偏最小二乘法(partial least squares, PLS)为建模方法,以内部交叉验证决定系数(R)、校正均方差(root-mean-square error of calibration, RMSEC)、预测均方差(root-mean-square error of prediction, RMSEP)为综合指标,来考察不同预处理方法对模型建立的影响。通常要求 RMSEC、RMSEP 越小, R 越接近 1,且 RMSEP/RMSEC ≤ 1.2 时,表明预测结果越好<sup>[9]</sup>。结果显示:在预处理方法为一阶导数法时 R = 0.970, RMSEC = 0.254, RMSEP = 0.278, RMSEP/RMSEC = 1.094,小于 1.2,故确定最佳预处理方法为一阶导数法,见表 1。

表1 不同预处理方法对模型性能的影响

光谱预处理方法	R	RMSEC	RMSEP
Constant(无)	0.891	0.480	0.292
SNV(标准归一化)	0.921	0.412	0.451
MSC(多元散射校正)	0.897	0.468	0.340
First Derivative(一阶导数)	0.970	0.254	0.278
SNV + First Derivative	0.932	0.383	0.438
MSC + First Derivative	0.858	0.543	0.647

2.3 光谱区间的选择

PLS 法处理全谱信息,建模波段宽,存在大量信息,为此有必要进行波段的选择,以排除无关干扰。5 155~7 880 cm<sup>-1</sup>是水分子组合频吸收的主要谱带,主要包含了药材中水分等有关信息<sup>[1-9]</sup>。以 R、RMSEC、RMSEP 等为综合指标,考察不同建模波段对模型的影响。结果显示:R 为 0.970 时,最接近 1, RMSEC、RMSEP 值分别为 0.254、0.278,均为最小,故经过筛选水分含量所对应的最佳波段范围为 6 689~7 832 cm<sup>-1</sup>、5 223~5 869 cm<sup>-1</sup>,见表 2。

表2 NIR 范围考察

光谱范围 (cm <sup>-1</sup> )	R	RMSEC	RMSEP
4 005.95~9 528.72	0.969	0.260	0.386
5 000~8 000	0.941	0.356	0.281
6 821~7 799	0.862	0.537	0.506
6 689~7 832、5223~5869	0.970	0.254	0.278
4 211~5 249、5276~7038	0.935	0.375	0.474

2.4 模型的建立

经过软件优化,广金钱草含水量的最佳光谱预处理方法为一阶导数法,且光谱范围 6 689~7 832 cm<sup>-1</sup>、5 223~5 869 cm<sup>-1</sup>时,主成分数为 7,模型的 R 为 0.970 8, RMSEC 为 0.254, RMSEP 为 0.278,校正集内部交叉验证均方差(root-mean-square root of crossvalidation, RMSECV)为 0.582。通常要求 RMSECV < 1.5<sup>[10]</sup>时,说明模型质量较好,预测精度较高,结果见图 2、图 3。

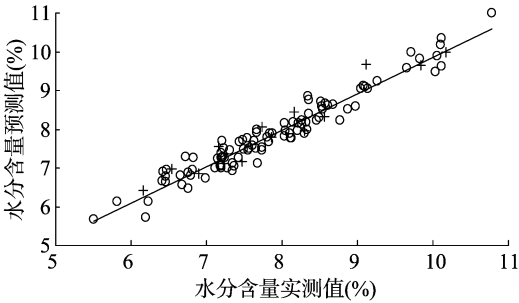


图2 校正集样品交叉验证得到的NIR预测值与参考值之间的相关关系

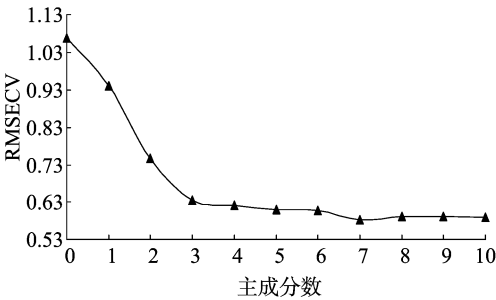


图3 RMSECV值随主成分数的变化

2.5 模型的验证

另取 23 份广金钱草对模型的预测结果进行检验,通常要求验证集的重复性标准偏差不大于 RMSEP 的 0.33 倍(即要求验证集的重复性标准偏差小于 0.092),说明模型重复性较好,而验证集标准偏差与预测标准偏差的比值 RPD 越大,准

确性越高<sup>[10]</sup>。若  $RPD > 3$ , 表明模型的预测结果可以接受<sup>[11]</sup>。检验结果如表 3 所示, 广金钱草含水量的实测值与预测值绝对偏差为  $-0.21 \sim 0.27$ , 重复性标准偏差为 0.069, 平均回收率为 99.96%。从含水量实测值与模型预测值的分析结果来看, 重复性标准偏差 0.069 小于 0.092, 说明模型重复性较好, 广金钱草水分测定模型的 RPD 为 5.8, 模型可接受。经统计学检验, 对于给定显著性水平 0.5,  $t_{0.05,22} = 0.686$ , 23 个样品的预测值与实测值的  $t$  检验值为 0.28,  $P > 0.5$ , 差异不显著<sup>[12]</sup>, 故光谱方法与参考方法之间不存在系统误差。综合上述各分析结果, 该模型可以满足对广金钱草水分快速无损检测的需要。

表 3 测定值与预测值结果比较

编号	实测值 (%)	预测值 (%)	绝对偏差 (%)	平均回收率 (%)	标准偏差
1	6.16	6.23	0.07	99.96	0.069
2	7.16	7.25	0.09		
3	7.22	7.29	0.06		
4	9.27	9.25	-0.02		
5	8.57	8.66	0.09		
6	9.08	9.14	0.06		
7	9.84	9.65	-0.19		
8	10.4	10.3	-0.1		
9	8.05	7.96	-0.09		
10	8.04	8.15	0.11		
11	8.33	8.3	-0.03		
12	7.84	7.9	0.06		
13	9.71	9.98	0.27		
14	9.05	9.05	0		
15	7.74	7.53	-0.21		
16	7.19	7.08	-0.11		
17	7.68	7.74	0.06		
18	8.77	8.74	-0.03		
19	8.36	8.39	0.03		
20	6.82	6.94	0.12		
21	7.18	7.05	-0.13		
22	7.34	7.13	-0.21		
23	8.84	8.86	0.02		

注:  $t < t_{0.05,22}$ ,  $P > 0.05$ , 差异不显著。

2.6 广金钱草水分定量分析模型方法学考察

- 2.6.1 精密度考察 取同一份样品粉末 4 g, 重复 6 次扫描其 NIR 图谱, 输入 NIR 分析模型计算其含量, 其 RSD 值为 1.23%。
- 2.6.2 重复性考察 分别取同一样品 6 份, 各 4 g, 分别扫描其 NIR 图谱, 输入 NIR 分析模型计算其含量, 计算结果 RSD 为 1.45%。

3 结论与讨论

试验中采用偏最小二乘法建立广金钱草水分含量的定量分析模型, 结合多元散射校正、标准归一化法、一阶或二阶导数和平滑进行光谱预处理; 同时考察了不同建模波段对模型

的影响, 通过与其他波段的对比, 以  $R$ 、RMSEC、RMSEP、RMSECV 等为综合指标, 考察不同预处理方法及建模波段对模型建立的影响。最终确定采用一阶导数法对光谱进行预处理, 且在  $6\,689 \sim 7\,832\text{ cm}^{-1}$ 、 $5\,223 \sim 5\,869\text{ cm}^{-1}$  波段时, 以上各指标达最优, 确定了最佳主成分数为 7, 并通过对模型的验证及方法学考察, 建立了最优定量分析模型。

利用近红外光谱技术结合化学计量学方法获得广金钱草药材样品中的有效信息, 通过与对应样品中水分的含量进行线性拟合而建立水分含量测定模型, 该模型经验证集样品验证其标准偏差为 0.069, 说明利用该方法测定广金钱草药材中的水分可靠、准确, 无需再用相对繁琐的烘干方法进行测定, 这为中药材中水分的测定找到了一个快捷并准确的途径。该方法可以在其他中药材的水分测定中进行推广。

参考文献:

[1] 郭念欣, 蔡佳良, 李蕾蕾, 等. 运用近红外技术建立藿香正气胶囊中厚朴酚的定量模型[J]. 中国实验方剂学杂志, 2013, 19(8): 146-149.

[2] 郭念欣, 蔡佳良, 姬生国. 近红外光谱技术在陈皮道地性分析中的应用[J]. 中国药房, 2013, 24(15): 1394-1396.

[3] 蔡佳良, 李蕾蕾, 姬生国. 近红外光谱法快速测定广藿香中水分含量[J]. 医药导报, 2012, 31(11): 1468-1470.

[4] 蔡佳良, 黄洁燕, 邓婉婷, 等. 近红外光谱法快速测定广藿香中醇溶性浸出物含量[J]. 中国药学杂志, 2012, 47(24): 2026-2028.

[5] 蔡佳良, 郭念欣, 姬生国. 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]. 云南中医中药杂志, 2013, 34(1): 53-54.

[6] 蔡佳良, 黄洁燕, 李蕾蕾, 等. 运用近红外光谱法建立广藿香含量定量分析模型[J]. 中国现代应用药学, 2013, 30(3): 260-261.

[7] 蔡佳良, 郭念欣, 黄洁燕, 等. 运用近红外光谱法建立广藿香中百秋李醇的定量模型[J]. 中国中药杂志, 2012, 37(14): 2113-2116.

[8] 李蕾蕾, 王海霞, 林 萍, 等. 近红外光谱技术在枇杷叶水分含量测定中的应用[J]. 中国实验方剂学杂志, 2013, 19(19): 104-107.

[9] 褚小立. 化学计量学方法与分子光谱分析技术[M]. 北京: 化学工业出版社, 2011: 75-78.

[10] 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: 175.

[11] 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: 35.

[12] 孙振球, 徐勇勇, 颜 虹, 等. 医学统计学[M]. 2 版. 北京: 人民卫生出版社, 2008: 48-54.

[13] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典[M]. 北京: 化学工业出版社, 2009: 52.

[14] 马燕飞, 坎 杂, 张若宇, 等. 加工番茄可溶性固形物近红外高光谱反射成像检测[J]. 江苏农业科学, 2013, 41(8): 311-313.