

1-银杏内酯 C 2-白果内酯 3-银杏内酯 A 4-银杏内酯 B
1-ginkgolide C 2-bilobalide 3-ginkgolide A 4-ginkgolide B

图 1 对照品(A)和银杏滴丸(B)的 HPLC 图谱

Fig 1 HPLC Chromatograms of reference substances (A) and Yinxing Dropping Pills (B)

较多报道,但对于在制剂中,特别是滴丸剂中银杏萜类内酯测定的报道很少,这是因为在滴丸剂中成分复杂,互相干扰较多,增加了测定的难度。本实验建立了一种简便的滴丸剂中银杏萜类内酯的测定方法,具有一定的参考价值。

参考文献:

[1] 单鸣秋,张丽,曹雨诞. HPLC-ELSD 法测定银杏叶提取物中内酯的含量[J]. 中草药,2004,35(12):1366-1368.
 [2] 刘利群,刘天扬,金涛. HPLC-ELSD 法测定银杏叶口腔崩解片中的银杏内酯含量[J]. 中国药师,2006,9(6):529-530.
 [3] 颜玉贞,谢培山. HPLC-ELSD 法测定银杏叶中的 4 种萜类内酯含量[J]. 药物分析杂志,2001,21(3):173-176.
 [4] 张亚中,周亚球,王娟,等. HPLC-ELSD 法测定银杏叶软胶囊中萜类内酯的含量[J]. 中成药,2005,27(1):22-24.

丹参产业化提取中近红外在线检测技术的研究

张爱军¹,戴宁²,赵国磊^{1*}

(1. 天津天士力现代中药资源有限公司,天津 300410; 2. 天津天士力集团研究院,天津 300410)

摘要:目的 以丹参提取过程为研究对象,利用近红外在线检测技术,摸索建立出一种生产级别的中药提取过程在线控制方法。方法 将近红外检测仪器连接在提取设备上,在线采集提取液在近红外光谱,同时采集提取液样本并检测样本中的丹酚酸 B 质量浓度,使用化学计量学方法建立起在线检测模型。结果 以丹酚酸 B 为检测成分建立丹参在线检测模型,模型的相关系数为 0.989 9,校正均方差为 0.185,模型预测均方差为 0.303。结论 应用近红外在线检测技术,建立了丹酚酸 B 检测模型,实现了对丹参提取生产过程的在线监控。

关键词:丹参;近红外光谱;丹酚酸 B;在线检测

中图分类号:R284.2 文献标识码:B 文章编号:0253-2670(2010)02-0238-03

近红外技术是 20 世纪 80 年代后,随着计算机技术、化学计量学技术及仪器分析技术的发展和运用,逐渐发展起来的一门独立的分析技术,在国外近红外光谱分析技术广泛应用在石油、烟草、农业、药品和食品等多个领域^[1]。中药在我国有着悠久的历史,中药中主要的药用有效成分如酚酸类、黄酮类、生物碱等含有大量的 X-H 基团,在近红外谱段内有较强吸收,因此近红外光谱分析适用于对中药质量的分析研究,并在药材的真伪鉴别、产地分类、制剂包衣厚度测定等方面取得了一定的成果^[2,3]。同时利用近红外光谱技术实现对中药提取过程的质量控制应用方面也多有报道^[4]。本研究旨在通过使用近红外光谱技术实现对使用生产型设备进行丹参提取的生产过程的在线检测,监测丹参中的有效成分的变化情况,为生产工艺的优化和生产参数的调整提供数据支持,提高中药生产过程的质控水平,最

终实现提取生产过程的规范管理和标准化操作。

1 仪器与材料

ANTARIS 傅里叶近红外分析仪,DCS (Distributed Control System,集散控制系统),Result-Integration 工作流程设计软件,RESUL T-Operation 操作软件;Agilent 1100 高效液相色谱仪;JJ2000 型精密电子天平;500L 多功能提取设备。

丹参产于陕西商洛,经天士力现代中药资源有限公司质检部鉴定为丹参 *Salvia miltiorrhiza* Bunge 的干燥根茎;丹酚酸 B 对照品(中国药品生物制品检定所);甲醇、乙腈(色谱纯),甲酸(分析纯)。

2 方法与结果

2.1 丹参提取液的制备:称取丹参药材,加 6 倍量水,药液沸腾后,保持微沸状态,开启药液循环管路,提取 2 h,放液,药渣再加入 5 倍量水,药液沸腾后,保持微沸状态,开启药液循环管路,提取 1 h,放液,

* 收稿日期:2009-04-02

合并两煎提取液留用,药渣弃去。

2.2 NIR 谱图的在线采集:使用流通池配合远程光纤进行谱图采集。采集条件为分辨率 8 cm^{-1} ,扫描次数 32 次,扫描范围 $10\ 000\sim 4\ 000\text{ cm}^{-1}$,数据格式为 Absorbance 格式,光程为 2 mm。

2.3 丹酚酸 B 的 HPLC 法测定

2.3.1 色谱条件:Agilent C₁₈ 色谱柱(250 mm × 4.6 mm, 5 μm);流动相:甲醇-乙腈-甲酸水(30:10:1:59);检测波长:286 nm;体积流量:1 mL/min;进样量:10 μL;柱温:30℃。理论板数按丹酚酸 B 峰计算应不低于 2 000;在此条件下,丹酚酸 B 在 10 min 左右出峰。

2.3.2 对照品溶液的制备:精密称取丹酚酸 B 对照品适量,加 75% 甲醇制成 139.2 μg/mL 溶液,即得。

2.3.3 供试品溶液的制备:取提取液适量,摇匀,精密称取 1 mL,置于 25 mL 量瓶中,75% 甲醇稀释至刻度,摇匀,过 0.45 μm 微孔滤膜,取续滤液,即得。

2.3.4 测定:外标峰面积法测定。

2.4 光谱数据的处理:采用 Thermo 公司的 TQ 分析软件,将样品的近红外谱图(图 1)同 HPLC 法测定结果逐一对应,输入至 TQ 分析软件中,完成谱图和检测数据的录入,建立校正样品集。

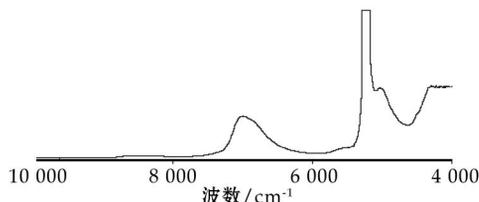


图 1 丹参提取液近红外谱图

Fig. 1 IR Spectrum of Radix Salviae Miltiorrhizae extract solution

2.5 分析算法的选择:采用 PLS (Partial Least Square, 偏最小二乘法) 回归法建立定量校正模型,以相关系数 (R) (correlation coefficient) 和均方差 (root mean square error of calibration, RMSEC) 为指标选择建模参数和优化模型结构,以预测均方差 (root mean square error of prediction, RMSEP) 考察模型的预测性能。

2.6 光谱的预处理:由于存在样品成分复杂、光散射等干扰因素,以及近红外仪器自身的噪音干扰,因此需要选择合理的光谱预处理方法以消除噪音,提高模型的预测精度和稳定性。试验中选择一阶微分和 Norris 平滑对建模光谱进行预处理,可有效地消除基线漂移、噪音干扰,能更为细致的反映出不同样品之间的信息差异。

2.7 光谱波段的选择:PLS 回归法可容许处理全谱信息,但从不同波段的试验结果来看,当选择全谱段进行建模时, RMSEC 值较大。因此,建模前对光谱波段进行筛选,可以避免引入过多信息,改善模型性能。不同波段光谱的模型相关系数 (R) 值和均方差值见表 1。

表 1 波段选择对 PLS 校正模型的影响

Table 1 Effect of wave selection on PLS calibration model

波段	相关系数 R	RMSEC
全波段($10\ 000\sim 4\ 000\text{ cm}^{-1}$)	0.782 31	0.821
波段 1($9\ 570\sim 7\ 359\text{ cm}^{-1}$)	0.974 01	0.296
波段 2($7\ 359\sim 6\ 973\text{ cm}^{-1}$)	0.921 90	0.507
波段 3($6\ 429\sim 5\ 434\text{ cm}^{-1}$)	0.989 92	0.185
波段 4($5\ 530\sim 4\ 912\text{ cm}^{-1}$)	0.741 59	0.879
波段 5($4\ 970\sim 4\ 312\text{ cm}^{-1}$)	0.933 28	0.470

可以看出,波段 3 的模型 R 值最高,其 RMSEC 为 0.185,波段 2 和波段 4 分别为水分子的二倍倍频和一倍倍频的吸收峰所在区域,因此这两个波段受水分子吸收因素的影响, R 值较低,尤其是波段 4 (水分子一倍倍频吸收谱峰), R 仅为 0.741 6。因此,根据全波段和各个波段对模型 R 值的影响,选择波数为 $6\ 429\sim 5\ 434\text{ cm}^{-1}$ 作为丹酚酸 B 模型进行数据处理的光谱区间。

2.8 模型主因子数的选择:采用 PLS 法建立定量校正模型,采用的主因子数不同,模型的 R 值和预测能力也会有较大的差异。在校正集样本一定的情况下,因子数取得太少,会导致建模的信息不全,模型预测能力太低;反之,因子数取得太多,会导致模型过于复杂,并且在训练中可能出现过拟合现象。通过考察模型的预测性能选择一个最优化的主因子数,对于丹酚酸 B,当 PLS 因子数选 8 的时候为最佳建模因子数。

2.9 模型的建立:通过对 4 批次试验数据进行筛选,采用一阶微分光谱对丹酚酸 B 质量浓度进行 PLS 建模,模型 R 为 0.989 92,均方差为 0.185。相关系数图见图 2。

2.10 模型评价:按照相同的生产条件,重复进行 1 批次生产,采集过程数据 27 个,作为评价组,进行模型预测测评。评价组各数据点的丹酚酸 B 质量浓度的预测值与 HPLC 检测值的变化趋势见图 3。结果表明,通过使用模型对评价组的数据进行对比和软件分析,预测均方差为 0.303,平均数据偏差为 6.9%,效果良好。

3 讨论

3.1 不同采谱方式的对信号稳定性的影响:试验之

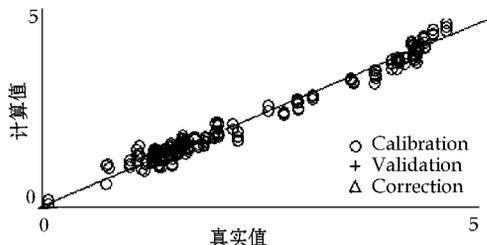


图 2 丹参提取液的相关系数图

Fig. 2 Correlation coefficient of Radix Salviae Miltiorrhizae extract solution

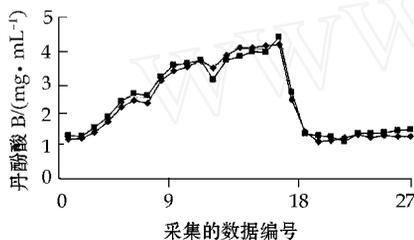


图 3 丹参药液中丹酚酸 B 的变化

Fig. 3 Change of salvianolic acid B in Radix Salviae Miltiorrhizae extract solution

初,考虑到光谱采集装置是连接在生产管路中的,曾经采用过动态采谱方式,药液在流通池内不断的流动,会产生小的湍流并生产小气泡,部分气泡会粘附在流通池的侧壁上,直接影响到光谱信号的采集。同时,生产车间的设备能力大且制造精度不及试验室的条件,如药液泵的瞬间压力变化、管道内部的摩擦阻力变化,会使实际到达流通池的药液速度也不尽相同,光谱信号会出现偏差或假信号的现象,影响到后期的数据分析和处理。在进行近红外光谱数据的采集时,采用在线静态采谱方式,并在流通池前加上过滤缓冲装置,减少因液体流动形成的泡沫和局部湍流。静态谱图的特点是:药液在流通池内呈静止状态,性质稳定,不受气泡和液体流动带来的干扰因素的影响,采集到的近红外谱图可以充分的反映提取液的状态和性质。

3.2 流通池按照位置的调试:开始试验时,检测流通池是安装在提取罐循环管路中的药液泵药液出口端之后,在多次试验中发现,流通池内经常有药液沫出现,并且采集到的谱图呈现不规则变化。通过现场观察发现,药液中含有小气泡,正是这些小气泡干扰了谱图的采集。经过分析原因为,药液泵在将药液急速泵出时,药液与管路中的空气形成一种气液混合状态,因此无法采集到稳定的近红外谱图。考虑到上述情况,将流通池位置设置在循环管路中的药液泵的进口端的前面,减少了对流通池的正面压

力冲击,发现药液中的气泡问题得到了很大的改观,基本上可以间断的采集到较稳定的谱图,但仍然会出现谱图采集不稳的情况。

3.3 管路连接方式:在将流通池连接到药液泵后,谱图采集有时仍会不稳定,观察发现,两条并联管路因管径不等,管路阀门的开度不同,液体在各条管路内的流动速度也不等,因此从流通池内通过的药液也会受到干扰,产生振动性小气泡。为了减少这种影响,尝试以间断互换的方式开启和关闭主循环管路和流通池所在的检测管路,将流通池的连接方式由并联改为串联,从采集到的谱图显示,较好的消除了气泡的影响,在药液提取过程中能够采集到稳定的近红外光谱图,并可用它们进行模型的建立和组分量的检测。

近红外光谱技术在中药领域得到了越来越多的应用,如药材的产地鉴别^[5],测定中药材中的含水量^[6]。在生产过程质量控制方面,有文献报道,在中药渗漉生产过程中也应用到近红外检测技术^[7]。在中药提取领域,尚没有生产级 NIR 在线检测的先例,无成功经验可以借鉴,只能在摸索中进行。由于中药中成分复杂,几乎不可能直接从一张 NIR 光谱图中找到某种化学成分的特征吸收带。所以,在 NIR 光谱定量分析中,需要预先使用参考化学方法测定出样品的组成,再在样品的 NIR 光谱信息与其化学组成之间建立经验性的数学关系,不同计算方法建立的模型也不尽相同,需要根据具体的物质选择合适的化学计量学方法。本实验通过采用近红外在线检测技术,并解决了实际生产过程谱图采集的问题,建立起丹酚酸 B 的测定模型,实现对丹参生产提取过程的有效成分变化情况的生产控制,基本可以满足生产环境下对在线监控的要求。

参考文献:

[1] 徐广通,袁洪福,陆婉珍,等. 现代近红外光谱技术及应用发展[J]. 光谱学与光谱分析, 2000, 20(2): 134-142.
 [2] 王亚敏,张卓勇,汤彦丰等. 近红外光谱技术在中药鉴别及分析中的应用[J]. 首都师范大学学报:自然科学版, 2004, 25(3): 41-45.
 [3] 柯博克,刘雪松,陈勇,等. 近红外光谱快速测定复方丹参滴丸的包衣厚度[J]. 中草药, 2006, 37(5): 685-688.
 [4] 刘岩,张延莹,张金巍,等. NIR 技术对复方丹参提取过程的在线监控研究[J]. 中草药, 2009, 40(3): 383-386.
 [5] 史春香,杨悦武,郭治昕. 近红外技术定量分析丹参药材[J]. 中药材, 2006, 29(9): 897-899.
 [6] 冯军勤,周誉昌,吕华,等. 运用近红外漫反射光谱技术检测中药水分含量[J]. 大众科技, 2006, 88(2): 46-47.
 [7] 刘全,瞿海斌,程翼宇. 用于渗漉提取过程分析的中药有效组分近红外光谱快速测定法[J]. 化工学报, 2003, 54(11): 1586-1591.