

近红外光谱法在线质量监控白芍工业化提取

张金巍, 张延莹*, 刘岩, 王苹, 张培

天津天士力现代中药资源有限公司, 天津 300410

摘要: 目的 利用近红外光谱(NIRS)技术研究并建立芍药苷的定量检测模型, 实现产业化规模白芍醇提液浓缩过程的在线质量监控。方法 在线采集 NIRS, 同时进行芍药苷的 HPLC 检测, 采用偏最小二乘法建立提取过程中芍药苷定量检测模型。结果 浓缩模型的最佳建模波段为 $5\,187\sim 7\,065\text{ cm}^{-1}$, 模型相关系数为 0.969 1, 校正均方差为 0.605。预测值与真实值的平均相对误差为 4.9%。结论 利用 NIRS 技术能够实现白芍醇提液浓缩过程的在线质量监控。

关键词: 近红外光谱; 高效液相色谱法; 白芍; 芍药苷; 在线质量监控; 偏最小二乘法

中图分类号: R286.02 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2011)12-2459-03

On-line quality control for *Paeoniae Radix Alba* industrial extraction by NIRS

ZHANG Jin-wei, ZHANG Yan-ying, LIU Yan, WANG Ping, ZHANG Pei

Tasly Modern TCM Resources Co., Ltd., Tianjin 300410, China

Key words: NIRS; HPLC; *Radix Paeoniae Alba*; paeoniflorin; on-line quality control; PLS

我国现行中药生产工艺的控制模式还无法实现对生产过程的在线检测和质量监控。如何利用先进的在线检测手段保证中药质量的稳定、均一是实现中药生产现代化的关键。近红外光谱(near-infrared spectroscopy, NIRS)是近年来迅速发展的一种快速分析技术, 样品光谱的获取操作简便且成本低, 无须复杂的样品前处理, 符合在线检测的要求。由于其所具有的优势, 近年来在中药领域的应用受到广泛关注^[1-6], 在中药及其制剂领域的应用日益增多^[7-13]。本研究以产业化规模白芍醇提液浓缩工序作为研究系统, 以浓缩液中的主要有效成分——芍药苷的变化作为研究对象, 利用 NIRS 在线检测技术采集光谱, 并结合 HPLC 检测技术和化学计量学的数据处理方法, 建立浓缩过程中芍药苷的定量检测模型, 实现生产过程的全程实时质量监控。

1 仪器与材料

ANTARIS 傅里叶近红外分析仪(美国 Thermo 公司), 配有光纤配件及 TQ Analyst 分析软件; Agilent 1100 高效液相色谱仪(美国 HP 公司); 500 L 多功能提取装置、300 L 板式浓缩装置(天士力现代中

药资源有限公司)。

白芍药材产于安徽, 经天士力现代中药资源有限公司张延莹高级工程师鉴定为白芍 *Paeoniae Radix Alba*; 芍药苷对照品(批号 110736-200933, 中国药品生物制品检定所); 甲醇、异丙醇为色谱纯(默克公司); 柠檬酸为分析纯(天津化学试剂有限公司)。

2 方法与结果

2.1 白芍的提取与浓缩

称取白芍药材 50 kg, 置于 500 L 多功能提取装置中, 加 5 倍量 60%乙醇回流提取 2 次, 每次 1 h。2 次醇提液合并后 300 目滤过, 然后用板式浓缩装置浓缩至相对密度为 1.08~1.10(60 ℃)的浓缩液。在浓缩过程中每隔 5 min 在线采谱 1 次, 同时取样进行 HPLC 检测。

2.2 光谱采集条件

扫描范围 $10\,000\sim 4\,000\text{ cm}^{-1}$, 扫描次数为 32 次, 分辨率 8 cm^{-1} 。

2.3 光谱采集与取样

光谱采集方式: 对浓缩过程每隔 5 min 采谱 1 次, 每次采集 2 张谱图。

收稿日期: 2011-02-01

基金项目: 国家科技支撑项目(2007BA147B02)

作者简介: 张金巍(1978—), 男, 工程师, 质量保证部经理, 研究方向为中药新技术应用开发及质量控制。

Tel: (022)26736588 E-mail: tjvv@163.com

*通讯作者 张延莹 Tel: (022)86342192 15522940937 E-mail: zhangyy2@tasly.com

取样：采谱的同时取样进行 HPLC 检测，样品编号一一对应。

2.4 芍药苷的 HPLC 测定方法^[14]

2.4.1 色谱条件 色谱柱为 Agilent Zorbax SB-C₁₈ 柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μm)，流动相为甲醇-异丙醇-5 mmol/L 柠檬酸水溶液 (18:2:80)，检测波长 240 nm，体积流量 1 mL/min，柱温 30 ℃，进样量 5 μL。理论板数按芍药苷峰计算不低于 4 000。

2.4.2 对照品溶液的制备 精密称取芍药苷对照品适量，加 80% 甲醇制成约为 0.02 mg/mL 的对照品溶液。

2.4.3 供试品溶液的制备 精密量取 1 mL 浓缩液，用 80% 甲醇稀释至 50 mL，摇匀，用 0.45 μm 滤膜滤过，取滤液即得。

2.4.4 样品测定 取白芍浓缩液样品各 1 mL 制备供试品溶液。分别精密吸取芍药苷对照品溶液和供试品溶液各 5 μL，进样测定，记录芍药苷的峰面积，采用外标法计算芍药苷的质量浓度。

2.5 光谱数据的预处理

在 NIRS 的采集过程中，环境的变化会引起光谱的基线偏移，随机噪声和样品背景干扰都会对校正结果产生影响，因此需要对光谱数据进行预处理。本研究将各种光谱预处理方法排列组合，考察其对浓缩模型相关系数 (r)、均方差及校正均方差的影响，结果见表 1。使用的预处理方法有原始光谱、多元散射校正 (MSC)、标准正交变换 (SNV)、一阶微分、二阶微分、S-G 平滑和 Norris 导数滤波平滑等。根据表中的计算结果，最终模型选择原始光谱建立模型。

2.6 最佳主因子数的选择

采用 PLS 法建立定量模型时，为避免出现“过拟合”现象，需要对主因子数进行合理选择^[15]。本研究采用留一交叉验证法，考察了主因子数对内部交叉验证均方差的影响。浓缩模型的交叉验证结果见表 2。可以看出，当主因子数为 4 时，校正均方差为 0.680，超过此主因子数时，校正均方差不再下降反而有所上升，因此确定最佳主因子数为 4。

2.7 光谱范围的选择

根据白芍浓缩液近红外光谱图 (图 1) 的特性，本研究在去除吸收饱和波段及噪声较大的部分波段后，通过比较，选取吸收特征较为明显的 5 187~7 065 cm⁻¹ 波段作为建立模型的最佳光谱范围，模型的相关系数及预测效果良好。

表 1 不同光谱预处理方法对浓缩模型的影响

Table 1 Effect of various spectrum pre-treatments on concentrate

光谱预处理方法	r	均方差	校正均方差
原始光谱	0.969 1	0.605	0.680
原始光谱+S-G	0.968 5	0.611	0.682
MSC	0.965 7	0.637	0.717
MSC+一阶	0.955 0	0.728	1.040
MSC+二阶	0.862 0	1.240	2.220
MSC+一阶+Norris	0.957 0	0.712	0.804
MSC+二阶+Norris	0.954 5	0.732	0.817
SNV	0.962 9	0.662	0.747
SNV+一阶	0.953 6	0.739	1.060
SNV+二阶	0.862 0	1.240	2.230
SNV+一阶+Norris	0.954 1	0.735	0.842
SNV+二阶+Norris	0.952 9	0.744	0.835
一阶+Norris	0.951 3	0.757	0.902
二阶+Norris	0.951 7	0.753	0.856
一阶+S-G	0.946 8	0.790	1.000
二阶+S-G	0.923 8	0.939	1.290

表 2 浓缩模型最佳主因子数和交叉验证结果

Table 2 Optimal PLS factors of concentrate and results obtained by cross-validation

因子数	校正均方差	因子数	校正均方差
0	2.462	6	0.746
1	1.088	7	0.792
2	0.764	8	0.805
3	0.697	9	0.804
4	0.680	10	0.832
5	0.702		

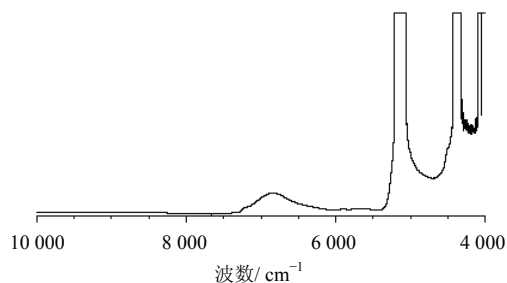


图 1 白芍浓缩液近红外光谱图

Fig. 1 NIR spectrum of *Paeoniae Radix Alba* concentrate

2.8 模型的建立

对 7 批次白芍醇提液浓缩过程共计 145 个样本进行数据分析，对芍药苷的量进行 PLS 建模。根据交叉验证获得结果：最佳主因子数为 4， $r=0.969 12$ ，均方差为 0.605。模型预测值与真实值相关性见图 2。

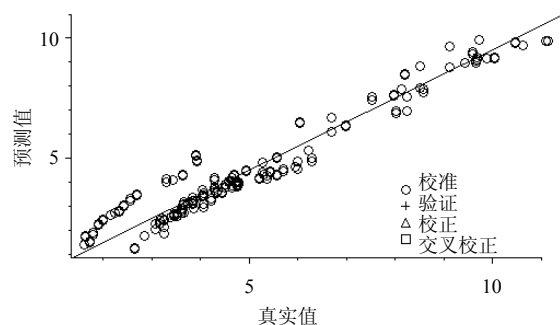


图2 芍药苷预测值与真实值之间的相关性

Fig. 2 Paeoniflorin correlation between predicted and actual values

2.9 预测效果的评价

为了验证上述模型的预测效果,参照同样的生产条件,重复进行1批次生产,并采集浓缩样本20个,用于模型的验证。芍药苷质量分数的预测值与真实值的变化趋势见图3。可以看出,白芍醇提液浓缩过程的预测曲线与真实曲线呈稳定、一致的变化趋势,预测值与真实值间的平均相对误差为4.9%。

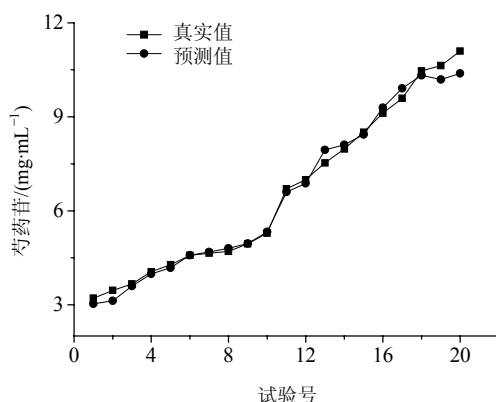


图3 芍药苷的HPLC真实值与预测值变化趋势图

Fig. 3 Change trends of HPLC actual and predicted values of paeoniflorin

3 讨论

在谱图采集过程中,流通池中的样品存在气泡,一直是困扰试验进行的问题,因为其直接影响到光信号在流通池中的吸收与传播,造成采集到的光谱出现不规则峰型,谱图信息受到严重干扰。针对该问题,笔者从设备、现场操作等方面入手,经过试验和摸索,避免了气泡的干扰现象,扫清了在线采谱的最大障碍。

NIRS分析技术具有方便、省时、成本低、环境友好等优点。本研究采用直接在白芍浓缩装置上增

加近红外检测设备进行在线采谱的方式,建立了浓缩过程的芍药苷定量检测模型,模型的趋势预测效果良好,能够满足生产过程中在线检测和质量监控的要求。

参考文献

- [1] 李彦周, 闵顺耕, 刘霞. 近红外光谱技术在中草药分析中的应用[J]. 光谱学与光谱分析, 2008, 28(7): 1549-1553.
- [2] 高娟, 唐素芳, 高立勤, 等. 浅谈近红外光谱技术在药物分析领域的应用[J]. 天津药学, 2010, 22(4): 72-74.
- [3] 颜栋林, 程文君. 近红外光谱分析技术在药品快速检测中的进展[J]. 临床合理用药, 2009, 2(21): 124-125.
- [4] 张爱军, 戴宁, 赵国磊. 丹参产业化提取中近红外在线检测技术的研究[J]. 中草药, 2010, 41(2): 238-240.
- [5] 周云, 臧恒昌. 近红外分析技术在中药鉴定及含量测定方面的研究进展[J]. 食品与药品, 2009, 11(1): 72-74.
- [6] 田华, 黄开合, 袁胜浩. 近红外光谱技术及其在中药质量分析中的应用[J]. 中国药房, 2011, 22(3): 281-282.
- [7] 张威, 白雁, 雷敬卫, 等. 近红外光谱法测定黄芩提取物中黄芩苷含量[J]. 计算机与应用化学, 2010, 27(12): 1698-1706.
- [8] 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): 703-705.
- [9] 韩莹, 张永耀, 侯惠婵, 等. 近红外光谱法鉴别消渴丸真伪的应用[J]. 广东药学院学报, 2010, 26(4): 348-350.
- [10] 蒋受军, 刘丽娜, 朱斌, 等. 近红外光谱法测定注射用丹参(冻干)中丹参素、原儿茶醛及总酚含量的初步研究[J]. 药物分析杂志, 2008, 28(7): 1094-1098.
- [11] 白雁, 王星, 陈志红. 近红外光谱法检测连翘药材中水分含量[J]. 郑州大学学报: 医学版, 2008, 43(6): 1164-1166.
- [12] 孙荣梅, 相秉仁, 于丽燕, 等. 近红外光谱法用于菟丝子药材的鉴别[J]. 药学与临床研究, 2010, 18(6): 534-536.
- [13] 章顺楠, 杨海雷, 刘占强, 等. 近红外光谱法在线监测复方丹参滴丸料液中有有效成分含量[J]. 药物分析杂志, 2009, 29(2): 192-196.
- [14] 刘玉红, 张惠珍. 高效液相色谱法测定芍药中芍药苷的含量[J]. 中国医院药学杂志, 2006, 26(10): 1308-1309.
- [15] 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.