

基于近红外光谱技术的香菊片提取液膜分离过程评价

屈 琼¹, 韩立柱¹, 赵小梅¹, 张 颖¹, 魏 玄¹, 唐莹莹¹, 雷 璇¹, 赵佩媛¹, 张新博¹, 邱金清¹, 宋 逍^{1,2*}

1. 陕西中医药大学, 陕西 咸阳 712046

2. 中药制药与新药开发教育部工程研究中心, 北京 100029

摘要: 目的 采用近红外光谱 (near infrared spectrum, NIRS) 技术结合偏最小二乘法 (partial least-square, PLS) 建立香菊片提取液膜分离过程中没食子酸、鞣花酸、木犀草素 3 个成分的定量监测模型。方法 收集香菊片膜分离过滤液样本 53 个, 其中预测集 38 个, 验证集 15 个, 用 HPLC 法测定所有样本中没食子酸、鞣花酸、木犀草素 3 个成分的含量, 同时采集 NIRS 数据。将得到的光谱数据与 3 个化学成分含量数据应用 PLS 回归分析建立定量模型, 采用模型的校正集相关系数 (correlation coefficient of calibration, R_c)、预测集相关系数 (correlation coefficient of prediction, R_p)、校正集误差均方根 (root mean square error of calibration, RMSEC)、预测集误差均方根 (root mean square error of prediction, RMSEP) 和预测集相对偏差 (relative standard of errors of prediction, RSEP) 对定量预测模型进行评价。结果 没食子酸、鞣花酸、木犀草素近红外定量模型 RMSEC 分别为 0.561、1.256、0.342, R_c 分别为 0.981、0.992、0.986; RMSEP 分别为 0.557、1.157、0.367, R_p 分别为 0.987、0.994、0.979; RSEP 分别为 5.73%、4.23% 和 3.78%, 均小于 10%。结论 建立的 NIRS 定量模型预测性良好, 可用于香菊片提取液膜分离过程的成分含量测定和终点判断。

关键词: 香菊片; 近红外光谱; 膜分离; 没食子酸; 鞣花酸; 木犀草素

中图分类号: R283.6 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2023)21-7017-08

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2023.21.010

Evaluation of membrane separation process of Xiangju Tablets extract based on near-infrared spectrum technology

QU Qiong¹, HAN Li-zhu¹, ZHAO Xiao-mei¹, ZHANG Ying¹, WEI Xuan¹, TANG Ying-ying¹, LEI Xuan¹, ZHAO Pei-yuan¹, ZHANG Xin-bo¹, QIU Jin-qing¹, SONG Xiao^{1,2}

1. Shaanxi University of Chinese Medicine, Xianyang 712046, China

2. Engineering Research Center for Pharmaceutics of Chinese Materia Medica and New Drug Development, Ministry of Education, Beijing 100029, China

Abstract: Objective The quantitative monitoring model of gallic acid, ellagic acid and luteolin in the membrane separation process of Xiangju Tablets extract was established by near infrared spectrum (NIRS) combined with partial least-square (PLS). **Methods** A total of 53 samples of filtrate separated by Xiangju Tablets membrane were collected, including 38 prediction sets and 15 validation sets. The contents of gallic acid, ellagic acid and luteolin in all samples were determined by HPLC, and the near-infrared spectral data were collected at the same time. The obtained spectral data and the content data of three chemical components were used to establish a quantitative model by PLS regression analysis. Correlation coefficient of calibration (R_c), correlation coefficient of prediction (R_p), root mean square error of calibration (RMSEC), root mean square error of prediction (RMSEP), and relative standard of errors of prediction (RSEP) were used to evaluate the quantitative prediction model. **Results** The RMSEC of gallic acid, ellagic acid and luteolin was 0.561, 1.256 and 0.342, respectively, and the R_c was 0.981, 0.992 and 0.986, respectively. The RMSEP was 0.557, 1.157

收稿日期: 2023-05-16

基金项目: 陕西省中医药管理局 (2021-04-ZZ-007); 陕西省教育厅项目 (21JC011); 国家重点研发计划 (2019YFC1711204)

作者简介: 屈 琼 (1999—), 女, 汉, 四川省达州市人, 硕士研究生, 研究方向为中药制剂工艺与新产品开发。

Tel: 13281262252 E-mail: 2720345499@qq.com

*通信作者: 宋 逍 (1979—), 男, 汉, 陕西省乾县, 教授, 硕士研究生导师, 博士, 研究方向为中药制剂工艺与新产品开发。

Tel: 15319015083 E-mail: song-xiaoyao@163.com

and 0.367, respectively, and the R_P was 0.987, 0.994 and 0.979, respectively. The RSEP was 5.73%, 4.23% and 3.78%, respectively, which were all less than 10%. **Conclusion** The established near-infrared quantitative model has good predictability and can be used for the determination of component content and terminus judgment in the membrane separation process of Xiangju Tablets extract.

Key words: Xiangju Tablets; near-infrared spectrum; membrane separation; gallic acid; ellagic acid; luteolin

中药成分复杂,为了提高疗效、减小剂量易于研制,中药材在制备为成方制剂时往往需要经过纯化处理,纯化工艺直接关系到药材资源的充分利用和制剂的疗效。膜分离技术是一种采用选择性渗透膜作为分离媒介,利用化学位差或外部能量作为推动力实现对某一类物质的分离、提纯和浓缩的分离工艺技术;膜分离技术能够有效保留功效成分的活性,而且其选择性强,操作过程简单,适用范围广,能耗低,已广泛应用于医药生产过程中^[1]。

近红外光谱(near infrared spectrum, NIRS)的波数为 12 800~4000 cm^{-1} ,具有快速无损的优点。NIRS 吸收带的信息主要是因为 C-H、O-H 和 N-H 等含有氢原子基团的吸收,所以,NIRS 能够对很多生物化学和化学样品进行检测,然后利用光谱信息结合适当的参考方法建立数学模型,即可对样品进行定性或定量分析^[2-3],NIRS 技术在中药制备过程监测中有较多的应用,可用于香菊片药液膜分离过程评价。

香菊片由化香树果序、夏枯草、野菊花、黄芪、辛夷、防风、白芷、甘草、川芎 9 味中药组成,具有抗过敏、抗炎、镇痛的效果,对急性、慢性鼻窦炎、鼻炎的治疗效果良好^[4]。本实验在课题组前期提取工艺优化的基础上,采用膜分离技术对香菊片提取液进行纯化,利用近红外光谱仪结合化学计量学方法测定膜分离过程中药液的有效成分的含量变化,可实现对膜分离终点的判断,为香菊片除杂过程的质量监控提供方法和依据。

1 仪器与材料

1.1 仪器

Ulti Mate 3000 高效液相色谱仪,赛默飞世尔科技有限公司;BSA224S 型万分之一电子天平,北京赛多利斯科学仪器有限公司;Tensor II 型傅里叶变换红外光谱仪,德国 Bruker 公司;LNG-CM-101 型膜分离仪,上海朗极膜分离设备工程有限公司。

1.2 试药与试剂

化香树果序、夏枯草、野菊花、生黄芪、辛夷、防风、白芷、甘草、川芎均购自西安市浐灞中药材市场,经陕西中医药大学药学院胡本祥教授鉴定,符合《中国药典》2020 年版相关项下规定,鉴定结

果:化香树果序基原为胡桃科化香树属植物化香树 *Platycarya strobilacea* Sieb. et Zucc. 的干燥果实,夏枯草基原为唇形科夏枯草属植物夏枯草 *Prunella vulgaris* L. 的干燥果穗,野菊花基原为菊科菊属植物野菊 *Chrysanthemum indicum* L. 的干燥头状花序,生黄芪基原为豆科黄芪属植物膜荚黄芪 *Astragalus membranaceus* (Fisch.) Bge. 的干燥根,辛夷基原为木兰科木兰属植物玉兰 *Magnolia denudata* Desr. 的干燥花蕾,防风基原为伞形科防风属植物防风 *Saposhnikovia divaricata* (Turcz.) Schischk. 的干燥根,白芷基原为伞形科当归属植物白芷 *Angelica dahurica* (Fisch. ex Hoffm.) Benth. et Hook. f. 的干燥根,甘草基原为豆科甘草属植物甘草 *Glycyrrhiza uralensis* Fisch. 的干燥根和根茎,川芎基原为伞形科藁本属植物川芎 *Ligusticum chuanxiong* Hort. 的干燥根茎。香菊片提取液(实验室自制,批号 200115);对照品木犀草素(批号 ML918532,质量分数 $\geq 98\%$)和鞣花酸(批号 21R3329,质量分数 $\geq 98\%$)均购自合肥博美生物科技有限责任公司;对照品没食子酸(批号 110831-201605,质量分数 $\geq 98\%$)购自中国食品药品检定研究院;甲醇,色谱纯,Fisher 公司;其余试剂为分析纯。

2 方法与结果

2.1 样品的制备

按照处方量称取化香树果序、夏枯草等 9 味中药共 3.188 kg,置于提取罐中,加入 13 倍量水,提取 2 次,每次 1 h,合并提取液,静置后采用布氏漏斗初滤。将滤液置于膜分离仪中,微滤膜为 Al_2O_3 无机陶瓷膜,膜孔径为 0.2 μm ,其中过膜压力 80 kPa,料液流速 1 m/s。在膜分离仪器稳定后开始收集样品用于分析检测,每 3 min 进行取样,共计得到 53 个样本。图 1 为实验过程装置示意图。

2.2 NIRS 条件

采用 Tensor II 傅里叶变换红外光谱仪采集香菊片膜分离过程中溶液的 NIRS 数据,设定波数为 4000~10 000 cm^{-1} ,分辨率 4 cm^{-1} ,以仪器的内部空气为参比,样品以积分球模式扫描,设定仪器的扫描次数为 16 次,每 1 个膜分离过程中采集的样品重复扫描 3 次^[5]。

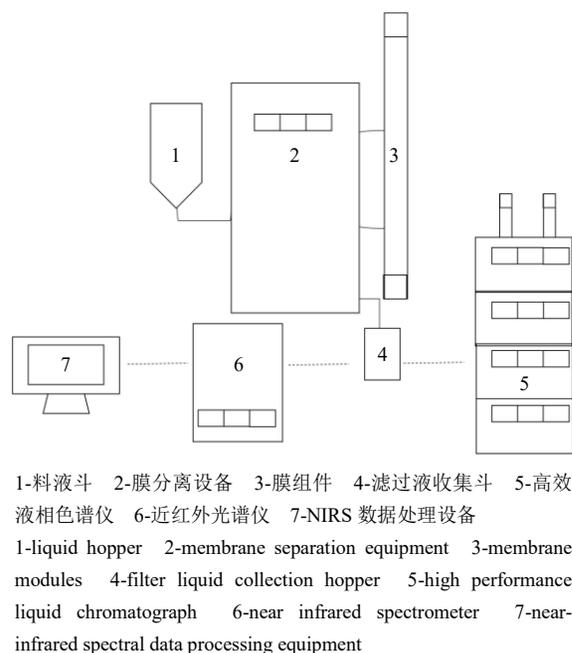


图1 实验过程装置示意图

Fig. 1 Schematic diagram of experimental process device

2.3 指标成分的含量测定

2.3.1 色谱条件 采用 Agilent SB-C₁₈ 色谱柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μm); 进样量 10 μL; 设定柱温为 30 °C; 体积流量 1 mL/min; 以甲醇-0.2%磷酸水溶液为流动相进行梯度洗脱: 0~10 min, 10%~20% 甲醇; 10~20 min, 20%~35% 甲醇; 20~30 min, 35%~43% 甲醇; 30~40 min, 43%~48% 甲醇; 40~50 min, 48%~70% 甲醇; 50~70 min, 70%~90% 甲醇; 检测波长 254 nm。HPLC 图见图 2。

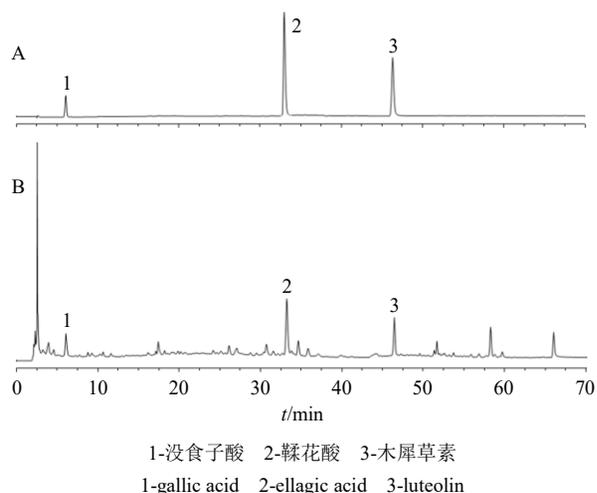


图2 混合对照品溶液 (A) 和香菊片膜分离过滤液供试品溶液 (B) 的 HPLC 图

Fig. 2 HPLC of mixed reference substances solution (A) and Xiangju Tablets membrane separation filtrate test solution (B)

2.3.2 对照品溶液的制备 分别精密称取没食子酸、鞣花酸和木犀草素对照品适量, 分别置于 5 mL 量瓶中, 加甲醇定容至刻度, 制备成质量浓度分别为没食子酸 0.156 mg/mL、鞣花酸 0.102 mg/mL、木犀草素 0.178 mg/mL 的单一对照品溶液。再分别精密称取 3 种对照品溶液置于 10 mL 量瓶中, 加入甲醇定容至刻度线, 制得质量浓度分别为没食子酸 162.8 μg/mL、鞣花酸 162.0 μg/mL、木犀草素 202.0 μg/mL 的混合对照品溶液。

2.3.3 供试品溶液的制备 取香菊片提取液样品, 摇匀, 吸取 1 mL, 过 0.22 μm 微孔滤膜, 取续滤液, 即得供试品溶液。

2.3.4 线性关系考察 分别精密吸取 3 种对照品溶液并依次稀释, 制得 7 个样品系列对照品溶液。按照“2.3.1”项下色谱条件进样测定, 以对照品质量浓度为横坐标 (X), 峰面积为纵坐标 (Y), 绘制标准曲线, 进行线性回归, 得到回归方程为没食子酸 $Y_1=0.1969 X_1+0.0672$, $r=0.9998$; 鞣花酸 $Y_2=1.1885 X_2-5.6259$, $r=0.9991$; 木犀草素 $Y_3=0.3680 X_3-0.2025$, $r=0.9998$; 结果表明, 没食子酸在 1.63~162.84 μg/mL、鞣花酸在 1.62~162.01 μg/mL、木犀草素在 4.04~202.21 μg/mL 与峰面积呈良好的线性关系。

2.3.5 精密度试验 精密吸取 3 种对照品溶液适量, 按“2.3.1”项下色谱条件连续进样 6 次, 结果没食子酸、鞣花酸和木犀草素峰面积的 RSD 分别为 1.67%、0.71%、1.29%, 结果表明仪器精密度良好。

2.3.6 重复性试验 精密称取香菊片处方药材 6 份, 按照“2.1”项下方法制备供试品溶液, 按照“2.3.1”项下色谱条件进样测定, 结果表明香菊片供试品溶液中没食子酸、鞣花酸和木犀草素质量分数的 RSD 分别为 1.71%、1.28%、2.18%, 表明该试验重复性良好。

2.3.7 稳定性试验 取同一份香菊片供试品溶液 (批号为 200115 的香菊片提取液膜分离开始时取的第 1 个样品), 在 25 °C 下放置 0、2、4、6、8、10、12 h, 然后按照“2.3.1”项下色谱条件进样测定, 结果显示香菊片供试品溶液中没食子酸、鞣花酸和木犀草素峰面积的 RSD 分别为 1.05%、0.88%、1.68%, 结果表明供试品溶液在室温放置 12 h 内较稳定。

2.3.8 加样回收率试验 精密量取同一份香菊片供试品溶液 6 份, 每份 1 mL, 将各对照品按照样品中所含该成分的 1.0 倍分别加入, 用“2.3.3”项下方法

制备供试品溶液,按照“2.3.1”项下色谱条件进样测定,得到没食子酸、鞣花酸和木犀草素的平均加样回收率分别为 102.35%、99.83%、101.44%,RSD 分别为 1.17%、2.10%、2.14%。

2.4 光谱预处理^[6]

本实验选用的 NIRS 预处理方法有:一阶求导(first derivative, 1D)、二阶求导(second derivative, 2D)、平滑滤波(Savitzky-Golay, SG)以及标准正态变换(standard normal variate, SNV)。1D 可以消除背景的常数平移;2D 可以消除线性背景平移;SG 是通过多项式来对移动窗口内的数据进行多项式最小二乘拟合以消除噪声;SNV 可降低样本中固体颗粒分布不均、大小不同和附加的散射对光谱的影响。

2.5 数据处理

采用 Unscrambler 10.4 软件对试验中采集的香菊片膜分离过滤液的光谱信息进行预处理以消除样品特征、仪器的精准度和测量环境变化带来的误差。对不同预处理方式进行筛选用于 NIRS 模型的建立。采用 MATLAB R2018b(美国 MathWorks 公司)软件进行光谱偏最小二乘(partial least squares, PLS)、组合区间偏最小二乘法(synergy interval partial least squares, SiPLS)模型的建立,间隔偏最小二乘(interval partial least squares, iPLS)算法工具包从 <http://models.kvl.dk> 网站获取^[7-8]。采用 SIMCA 14.1 软件对模型进行可视化处理和样品集和校正集的参数对比。

PLS 法是一种多元因子回归方法,对光谱矩阵 X 进行分解以消除无用的噪声信息,对浓度矩阵 Y 也进行分解,并且在分解光谱矩阵 X 时考虑浓度矩阵 Y 的影响。PLS 对光谱矩阵 X 和浓度矩阵 Y 的模型如下。

$$Y = UQ^T + E_Y = \sum_{k=1}^f u_k q_k^T + E_Y \quad (1)$$

$$X = TP^T + E_X = \sum_{k=1}^f t_k p_k^T + E_X \quad (2)$$

式(1)(2)中, $t_k(n \times 1)$ 为吸光度矩阵 X 的第 k 个主因子的得分; $p_k(1 \times m)$ 为吸光度矩阵的第 k 个主因子的载荷; $u_k(n \times 1)$ 为浓度矩阵 Y 的第 k 个主因子得分; $q_k(1 \times p)$ 为浓度矩阵的第 k 个主因子的载荷。 f 为主因子数。即 T 和 U 分别为 X 和 Y 矩阵的得分矩阵, P 和 Q 分别为 X 和 Y 矩阵的载荷矩阵, E_X 和 E_Y 分别为 X 和 Y 的 PLS 拟合残差矩阵。

采用校正集误差均方根(root mean square error

of calibration, RMSEC)、预测集误差均方根(root mean square error of prediction, RMSEP)、校正集相关系数(correlation coefficient of calibration, R_C)、预测集相关系数(correlation coefficient of prediction, R_P)、预测集相对偏差(relative standard of errors of prediction, RSEP)作为评价指标,考察建模方法的模型性能^[9-10]。 R_C 越大, RMSEC 值越小,所对应的模型拟合效果越好。 R_P 越大, RMSEP 值越小所对应的模型预测能力越好^[11-12]。

$$R_C = [1 - \sum_{i=1}^n (\hat{C}_i - C_i)^2 / \sum_{i=1}^n (C_i - \bar{C}_n)^2]^{1/2} \quad (3)$$

$$\text{RMSEC} = [1 - \sum_{i=1}^n (\hat{C}_i - C_i)^2 / n]^{1/2} \quad (4)$$

$$R_P = [1 - \sum_{i=1}^m (\hat{C}_{pi} - C_i)^2 / \sum_{i=1}^m (C_i - \bar{C}_m)^2]^{1/2} \quad (5)$$

$$\text{RMSEP} = [1 - \sum_{i=1}^m (\hat{C}_{pi} - C_i)^2 / m]^{1/2} \quad (6)$$

$$\text{RMSECV} = [\sum_{i=1}^n (\hat{C}_{yi} - C_i)^2 / n]^{1/2} \quad (7)$$

C_i 为 HPLC 参考方法测量值, \hat{C}_i 为校正集 NIRS 模型光谱分析预测值, \bar{C}_n 为校正集中 C_i 样品的平均值, \hat{C}_{pi} 为验证集中 NIRS 分析预测值, \bar{C}_m 为验证集中 C_{pi} 样品的平均值, C_{yi} 为建立模型时第 i 个样品的预测值, n 为校正集样本数, m 为预测集样本数

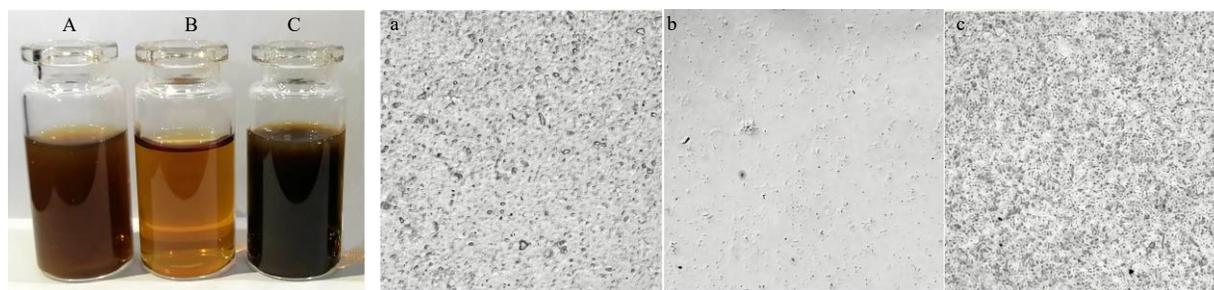
3 结果

3.1 训练集和预测集的划分

为消除 NIR 样本集划分过程中人员选择时主观因素的影响,本试验利用 MATLAB R2018b 软件中, Kennard-Stone 算法进行香菊片膜分离光谱样本集的划分^[13]。设定样本训练集 35 个,预测集 18 个。对香菊片提取液进行纯化时扫描其抽滤后、膜分离纯化后以及膜分离截留液的显微图,可以看出过膜后提取液的杂质明显减少,达到了较好的除质目的,结果见图 3。膜分离过程的化学成分含量的变化曲线见图 4。K-S 算法首先选择欧氏距离最远的 2 个样本进入训练集,然后通过计算剩下的每 1 个样品到训练集内每 1 个已知样品的欧式距离,找到距已选样本最远以及最近的 2 个样本,并将这 2 个样本选入训练集,重复上述步骤直到选择的样本数量达到目标要求^[14-16]。训练集和预测集样本中各成分质量浓度分布范围见表 1。

3.2 光谱预处理方法的筛选

采用 Unscrambler 软件对光谱数据进行预处理



A-抽滤液样本 B-膜分离后样本 C-膜分离截留液 a-抽滤液样本显微图 b-膜分离后样本显微图 c-膜分离截留液显微图
A-filtrate sample B-sample after membrane separation C-membrane separation retention liquid a-micrograph of the filtrate sample
b-micrograph after membrane separation sample c-microscoph of the membrane separation retention liquid

图 3 香菊片提取液膜分离效果及显微图 (×40)

Fig. 3 Membrane separation effects and micrographs of Xiangju Tablets extract (× 40)

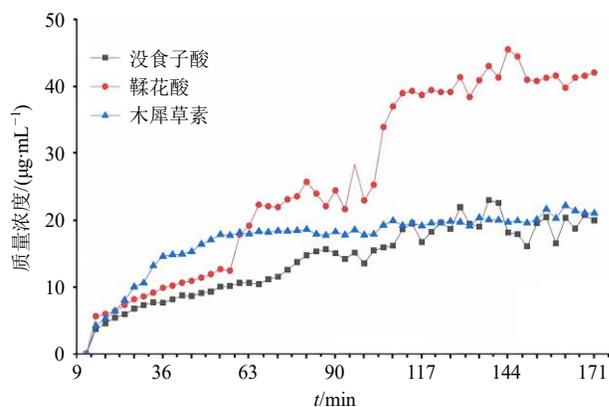


图 4 膜分离过程过滤液的化学成分含量的变化曲线

Fig. 4 Change curve of chemical composition content of filtrate in membrane separation process

和模型计算。由于环境和仪器等因素的干扰，信号中容易出现基线漂移以及噪声干扰，因此对香菊片提取液膜分离样品的 NIRS 进行适当的预处理，能够提高模型的性能。常用的 NIRS 预处理方法有：一阶求导、二阶求导、平滑滤波、多元散射校正法 (multivariate scatter correction, MSC) 以及标准正态变换等^[17]，并以 R_c 、RMSEC 评价模型性能， R_c 越接近 1，RMSEC 越小，说明所建模型越稳定，预测准确度越高。香菊片膜分离样品原始光谱图见图 5，膜分离溶液中水分子的 O-H 在 5155、6944 cm^{-1} 附近有较强的对称和反对称伸缩振动的组合频吸收；在 4500~5500 cm^{-1} 有反对称弯曲振动和伸缩振动的组合频吸收。由此可见，香菊片膜分离过程中原

表 1 训练集和预测集数据统计结果

Table 1 Statistical results of training set and prediction set data

项目	没食子酸/($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)				鞣花酸/($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)				木犀草素/($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)			
	最小值	最大值	平均值	标准差	最小值	最大值	平均值	标准差	最小值	最大值	平均值	标准差
训练集	3.699	21.930	13.924	5.393	5.624	41.579	25.985	13.656	4.685	20.370	16.510	3.492
预测集	7.278	23.006	14.634	4.948	8.567	44.466	28.144	13.148	10.618	20.265	17.814	2.619

始 NIRS 的整体变化包含了水分子特征吸收光谱。

3.3 潜变量因子数的筛选

考察原始光谱 (Raw)、SG、1D、2D、SNV 预处理之后对 NIRS 定量模型的影响，评价 5 种不同处理方式后所建立的 PLS 模型参数见表 2。可见采用 SNV 处理后，没食子酸和木犀草素光谱建立模型效果最好，此时没食子酸的 RMSEC 最小， R_c 最大 (0.990)；木犀草素的 RMSEC 为 0.397， R_c 为 0.992；使用原始光谱建立鞣花酸 PLS 模型效果较好，鞣花酸的 RMSEC 为 1.456， R_c 为 0.988；其他预处理方式下所建立模型的 R_c 为 0.872~0.981，模型的预测性能一般。因此，没食子酸和木犀草素选

择 SNV 预处理方式，鞣花酸选择原始光谱为最佳预处理方式以提高模型预测性能。

构建 PLS 模型时，潜变量因子数选择过多或过少都会显著影响所建立数学模型的预测性能。潜变量因子数过少则建模信息不全，出现光谱数据的“欠拟合”，导致模型精度和稳健性下降^[18-19]；过多则会在拟合出正确规则的前提下，进一步拟合噪声，导致光谱数据“过拟合”，使模型预测能力和稳健性下降^[20]，各组分的潜变量因子数和评价价值见图 6，由图知，没食子酸和木犀草素的 PLS 模型选取潜变量因子数为 5，鞣花酸的潜变量因子数选择 6 时，PLS 模型预测性能较好。

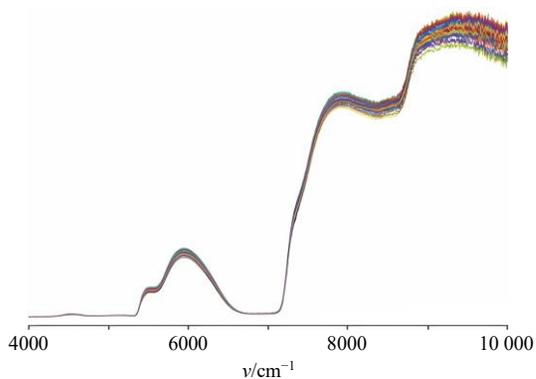


图 5 膜分离过程中原始 NIRS 图

Fig. 5 Original NIRS of membrane separation process

3.4 PLS 模型的建立和验证

基于上述优化过程，建立了没食子酸、鞣花酸和木犀草素的 PLS 定量校正模型。3 个化学成分的 PLS 模型的校正集和预测集中的参考值和 NIRS 预测值的相关性见图 7。从图中可以看出，NIRS 预测值与参考值表现出良好的拟合度，3 个定量模型的 R_C 和 R_P 均大于 0.9，没食子酸、鞣花酸和木犀草素的 RMSEC 分别为 0.561、1.256、0.342；RMSEP 分别为 0.557、1.157、0.367，每个模型的 RMSEC 和 RMSEP 较小且较为接近，并且没食子酸、鞣花酸和木犀草素的 RSEP 分别为 5.73%、4.23%和 3.78%，

表 2 不同光谱预处理方法对 PLS 模型性能的影响

Table 2 Effects of different spectral pretreatment methods on PLS model performance

处理方法	化学成分	潜变量因子数	RMSEC/($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)	R_C	RMSEP/($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)	R_P	RMSECV
RAW	没食子酸	5	0.551	0.989	0.494	0.989	0.554
	鞣花酸	4	1.456	0.988	2.115	0.973	2.413
	木犀草素	5	1.105	0.938	0.658	0.933	1.254
1D	没食子酸	2	0.867	0.973	0.605	0.984	0.941
	鞣花酸	2	4.815	0.872	3.755	0.891	3.241
	木犀草素	2	1.689	0.854	1.191	0.895	1.342
2D	没食子酸	2	0.967	0.966	0.711	0.978	0.941
	鞣花酸	2	2.474	0.966	3.687	0.882	3.848
	木犀草素	2	1.754	0.843	1.269	0.897	1.481
SG 9	没食子酸	4	2.156	0.835	1.565	0.894	2.241
	鞣花酸	5	2.353	0.969	3.067	0.942	4.120
	木犀草素	5	1.695	0.853	0.947	0.861	1.355
SNV	没食子酸	4	0.530	0.990	0.557	0.986	0.624
	鞣花酸	4	1.472	0.981	3.751	0.913	2.249
	木犀草素	4	0.397	0.992	0.467	0.979	0.421

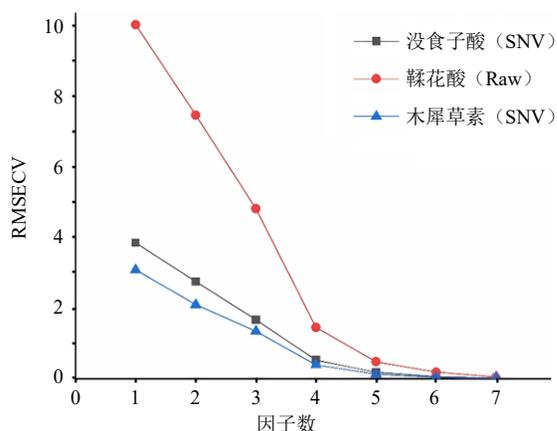


图 6 不同光谱预处理方法的潜变量因子

Fig. 6 Latent variable factors of different spectral pretreatment methods

均在 10%以内。表明模型的预测精度较高，可准确预测香菊片膜分离过程中没食子酸、鞣花酸和木犀草素的含量。根据上述相关评价参数和所建立的定量模型，进一步验证模型的预测能力^[21]，利用已校正的模型预测新的一批香菊片膜分离样品。结果见图 8 所示，可看出模型给出的 NIRS 预测值与参考值十分接近，变化趋势基本保持一致，表明采用 NIRS 结合 PLS 模型可以用于香菊片膜分离过程中的 3 种化学成分含量的测定。

4 讨论

本实验采用 NIRS 分析结合 PLS 算法建立香菊片膜分离过滤液定量校正模型，并考察了不同预处理方法对建模的影响，最后所建定量模型的 R 值均

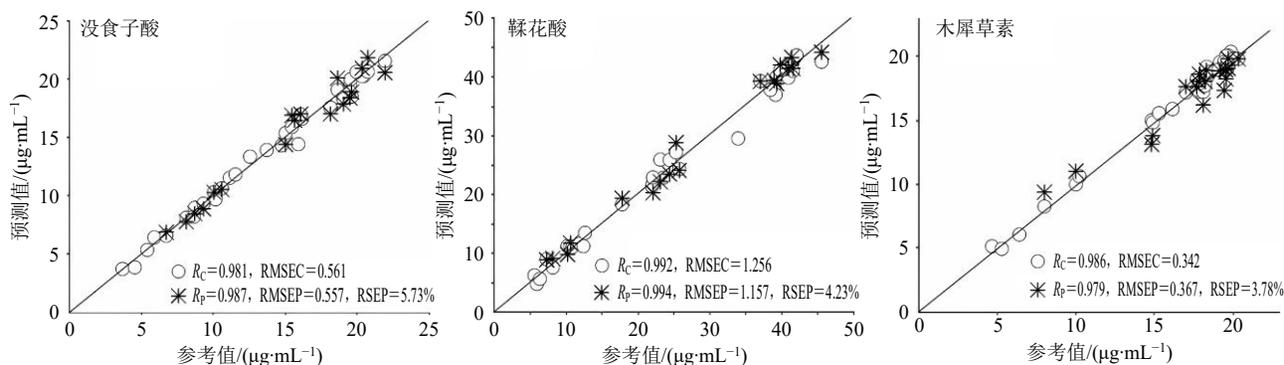


图7 预测值与参考值的相关性图

Fig. 7 Correlation plots between predicted value and reference value

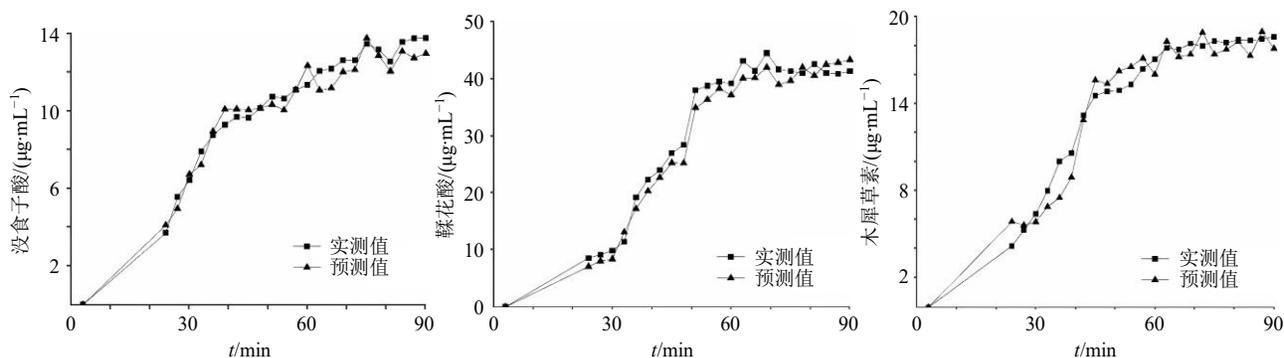


图8 NIRS 验证结果与参考方法测定结果的比较

Fig. 8 Comparisons of NIRS verification results with reference method results

在 0.9 以上, RSEP 在 10% 以内, 模型的预测精度较高。该方法实现了香菊片膜分离液中没食子酸、鞣花酸和木犀草素 3 种成分的快速测定和膜分离终点判断。实验共收集了 53 个香菊片膜分离液的 NIRS 信息, 没食子酸、鞣花酸和木犀草素为化学指标, 将得到的光谱数据与 3 个化学成分含量数据应用 PLS 回归分析建立定量模型, 对比不同的预处理方法与潜变量因子数用于优化模型。

在本实验的定量模型中, 训练集样本数为 35 个, 预测集样本数为 18 个。经过对比, 没食子酸和木犀草素最佳处理方式 SNV, 鞣花酸最佳处理方式选择原始光谱。将进行最佳预处理后的 NIRS 用于构建 PLS 模型时, 没食子酸和木犀草素选取潜变量因子数为 5, 鞣花酸潜变量因子数为 6 时, PLS 模型预测性能较好。通过对模型的性能进行验证, 未知样本的预测结果和真实值相比具有很小的偏差, 具有良好的线性关系。以上结果说明 NIRS 结合 PLS 的方法能够用于香菊片膜分离过程的指标成分含量的快速测定, 以及实现对膜分离过程终点的评价。

膜分离技术在中药领域中的研究已有近五十

年, 研究应用范围涉及中药的分离、纯化、浓缩等操作单元, 取得了一系列研究成果与应用经验。NIRS 分析方法操作快速、成本较低, 不破坏样本, 弥补了常规分析方法检测样品制备复杂和对样品破坏性的不足, 可以推广应用于中药提取、纯化、浓缩和检验过程的在线质量控制, 这对于节约资源、提升中药质量控制水平具有借鉴意义^[22]。但本实验采用的样本量较少, 考察的膜分离过程化学成分数量范围较窄, 且采用的是离线式 NIRS, 与现实生产工艺中的在线检测, 在仪器配备、检测方式、控制途径、取样模式、数据处理与分析等方面存在一定的差别, 相关研究将进一步继续, 后续将增加样本数量、扩大化学成分数量范围以及采用在线近红外光谱对膜分离过程进行进一步探索研究。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 张丽华, 叶世莉, 刘思美, 等. 白及多糖的超滤陶瓷膜分离工艺研究 [J]. 陕西中医药大学学报, 2022, 45(6): 34-39.
- [2] 冯艳春, 易夏, 胡昌勤. 制药工业中近红外光谱分析技术的重要标准和指导原则简介 [J]. 中国医药工业杂

- 志, 2016, 47(7): 957-962.
- [3] Poke F S, Raymond C A. Predicting extractives, lignin, and cellulose contents using near infrared spectroscopy on solid wood in *Eucalyptus globulus* [J]. *J Wood Chem Technol*, 2006, 26(2): 187-199.
- [4] 孙建设, 李晓华, 王凯, 等. 香菊片联合盐酸羟甲唑啉喷雾剂治疗慢性鼻窦炎的临床研究 [J]. *现代药物与临床*, 2019, 34(5): 1422-1425.
- [5] 吴志生, 史新元, 隋丞琳, 等. 清开灵注射液中间体银黄液中黄芩苷含量近红外测定方法的建立和验证 [J]. *中华中医药杂志*, 2012, 27(4): 1021-1024.
- [6] 王晴, 徐芳芳, 张欣, 等. 在线近红外光谱监测桂枝茯苓胶囊流化床干燥过程水分的方法研究 [J]. *中草药*, 2019, 50(22): 5429-5438.
- [7] 杜敏, 吴志生, 林兆洲, 等. 光程对清开灵注射液中黄芩苷近红外定量模型的影响 [J]. *药物分析杂志*, 2012, 32(10): 1796-1800.
- [8] Gong H Y, Hu Y N, Xie C X, *et al.* Fast determination of active components in fructus corni by near infrared spectroscopy [J]. *Adv Mater Res*, 2013, 807/808/809: 2054-2058.
- [9] 徐敏, 张磊, 岳洪水, 等. 基于近红外光谱技术和多变量统计过程控制的五味子提取生产过程监测方法 [J]. *中国中药杂志*, 2017, 42(20): 3906-3911.
- [10] Yoon W L, Jee R D, Charvill A, *et al.* Application of near-infrared spectroscopy to the determination of the sites of manufacture of proprietary products [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2004, 34(5): 933-944.
- [11] 周雨枫, 周立红, 张凤莲, 等. 近红外光谱技术在三七提取过程中的在线控制 [J]. *中药材*, 2019, 42(10): 2367-2370.
- [12] Dou Y, Qu N, Wang B, *et al.* Simultaneous determination of two active components in compound aspirin tablets using principal component artificial neural networks (PC-ANNs) on NIR spectroscopy [J]. *Eur J Pharm Sci*, 2007, 32(3): 193-199.
- [13] Zeng J Q, Zhou Z, Liao Y, *et al.* System optimisation quantitative model of on-line NIR: A case of *Glycyrrhiza uralensis* Fisch. extraction process [J]. *Phytochem Anal*, 2021, 32(2): 165-171.
- [14] 杜晨朝, 吴志生, 赵娜, 等. 基于两类误差检测理论金银花提取过程的 MEMS-NIR 在线分析建模方法研究 [J]. *中国中药杂志*, 2016, 41(19): 3563-3568.
- [15] 裴艳玲, 吴志生, 史新元, 等. 厚朴酚近红外光谱的 2D-COS 解析及其在藿香正气口服液模型中应用 [J]. *光谱学与光谱分析*, 2015, 35(8): 2119-2123.
- [16] Wu Z S, Zhou X Z, Yu F L, *et al.* NIR rapid assessments of Chinese material medica: Simultaneous determination of three major active components of licorice [C]//*Proc SPIE 9300, International Symposium on Optoelectronic Technology and Application 2014: Infrared Technology and Applications*, 2014, 9300: 182-188.
- [17] 杨越, 杨留长, 纪晓亮, 等. 近红外光谱法快速测定柴胡提取过程中的药效成分 [J]. *分析测试学报*, 2020, 39(11): 1311-1319.
- [18] Li W L, Yan X, Pan J C, *et al.* Rapid analysis of the Tanreqing injection by near-infrared spectroscopy combined with least squares support vector machine and Gaussian process modeling techniques [J]. *Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc*, 2019, 218: 271-280.
- [19] 安思宇, 张磊, 尚献召, 等. 红参提取物总皂苷近红外定量分析建模中的变量筛选 [J]. *光谱学与光谱分析*, 2021, 41(1): 206-209.
- [20] Xu B, Wu Z S, Lin Z Z, *et al.* NIR analysis for batch process of ethanol precipitation coupled with a new calibration model updating strategy [J]. *Anal Chim Acta*, 2012, 720: 22-28.
- [21] 解育静, 张家楠, 朱冬宁, 等. 肉桂中 4 种成分近红外定量分析模型的建立 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2020, 26(2): 119-123.
- [22] 陈述. 基于近红外光谱技术的不同产地中药有效成分含量检测方法 [J]. *激光杂志*, 2020, 41(12): 22-26.

[责任编辑 郑礼胜]