

近红外技术应用于药厂丹参药材质量检测

白雁, 李磊, 雷敬卫*, 谢彩侠, 左春芳 (河南中医学院, 郑州 450008)

摘要: 目的 利用近红外光谱技术, 快速测定丹参药材中丹参酮 II A 的含量。方法 运用偏最小二乘法(PLS)建立丹参药材中丹参酮 II A 含量与其近红外光谱之间的校正模型, 并对未知的丹参样品进行丹参酮 II A 含量预测。结果 校正集内部交叉验证决定系数 R^2 为 0.996 94, 交互验证均方根偏差 RMSECV 为 0.011 8, 11 份样品的外部预测均方根偏差 RMSEP 为 0.023 7。预测值的平均相对误差为 1.712 9%。结论 近红外光谱技术测定丹参药材中丹参酮 II A 的含量是可行的, 该方法快速准确、简单无损, 可应用于大批量样品的快速分析。

关键词: 近红外光谱技术; 丹参提取物; 丹参酮 II A; 快速测定

中图分类号: R284.1

文献标志码: A

文章编号: 1007-7693(2012)03-0222-04

基金项目: 河南省重大公益科研项目(081100912500); 河南中医学院 2011 年博士科研基金(BSJJ2011-03)

作者简介: 白雁, 女, 教授, 博导 Tel: 13693710835 E-mail: 270938736@qq.com *通信作者: 雷敬卫, 副教授, 博士 Tel: (0371)65575596

E-mail: ljwei@hactcm.edu.cn

Quality Determination of *Salvia Miltiorrhiza* in Pharmaceutical Industry By Near-infrared Spectroscopy

BAI Yan, LI Lei, LEI Jingwei*, XIE Caixia, ZUO Chunfang, (Henan University of Traditional Chinese Medicine, Zhengzhou 450008, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To rapidly determine the content of tanshinone II A in *Salvia miltiorrhiza* extraction by near-infrared spectroscopy. **METHODS** The calibration model of the content of tanshinone II A in *Salvia miltiorrhiza* and the near infrared spectroscopy of *Salvia miltiorrhiza* was built with partial least squares. **RESULTS** The correlation coefficient of calibration (R^2) was 0.996 94. Root mean square error of cross validation (RMSECV) was 0.011 8, and external prediction deviation RMSEP of 11 samples was 0.023 7. Predicted average relative error was 1.712 9%. **CONCLUSION** It is feasible to determine the tanshinone II A content in *Salvia miltiorrhiza*. Near-infrared spectroscopy is fast, accurate, simple and nondestructive which can be applied in rapid analysis of large numbers of samples.

KEY WORDS: near-infrared spectroscopy; *Salvia miltiorrhiza*; Tanshinone II A; rapid determination

丹参为唇形科植物丹参(*Salvia miltiorrhiza* Bge.)的干燥根及根茎^[1],有活血祛瘀、凉血清心、养血安神的功效,系应用历史悠久的常用中药^[2-3]。丹参酮 II A 是丹参的主要活性成分之一,是发挥药理活性的基础,中国药典 2010 年版将其作为指标性成分用来衡量丹参药材质量^[4-5]。近年来,随着医药技术的飞速发展,丹参的药用价值得以全面开发,其需求量持续递增;而我国丹参资源丰富,分布遍及全国各地,也造成其质量参差不齐。目前工厂生产按照药典进行丹参药材质量控制,但步骤复杂,检测效率较低,不能及时、高效地发现存在的质量问题^[6-7]。因此,目前需要一种快速有效的检测方法来实现对丹参的质量控制。

近红外技术是 20 世纪 80 年代后逐渐发展起来的一门独立的分析技术,目前这种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^[8]。本研究采用近红外分析技术对丹参中丹参酮 II A 的含量进行测定,从而期望为丹参药材在药厂生产过程中的质量检测提供一种可靠便捷的方法。

1 仪器与材料

1.1 仪器

VECTOR22-NIR 型傅立叶变换近红外光谱仪(布鲁克公司,配有 PbS 和 InGaAs 检测器,附漫反射积分球,样品旋转器和石英样品杯); HC100 型粉碎机(浙江省永康市金穗机械制造有限公司); CS101-2D 型电热鼓风干燥箱(中外合资重庆四达实验仪器有限公司); Aglient 1100 高效液相色谱仪(美国安捷伦公司); H54AR 型十万分之一天平(瑞士 METTLER 公司)。

1.2 材料

甲醇为色谱纯(天津永大);水为重蒸水;丹参酮 II A 对照品(中国药品生物制品检定所,批号:110766200619,纯度 $\geq 98\%$);58 份丹参样品均由河南省洛正制药厂提供,为其颗粒制剂筋骨痛消丸的原料药材之一。

2 方法

2.1 近红外光谱采集

将收集到的 58 份样品干燥后粉碎,取约 8 g 药材粉末(过 80 目筛),分别放入石英样品杯中,混合均匀,以空气为参比,扣除背景采集光谱图,采用积分球漫反射,分辨率: 8 cm^{-1} ,扫描次数:64 次,扫描范围: $12\ 000\sim 4\ 000 \text{ cm}^{-1}$,温度: $18\sim 25 \text{ }^\circ\text{C}$ 。按上述试验条件进行扫描,每个样品重复扫描 3 次,求平均光谱。58 份丹参粉末的近红外光谱叠加见图 1。

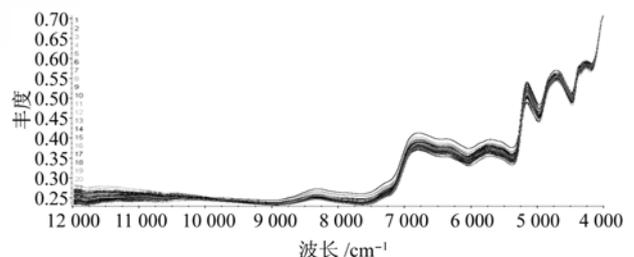


图 1 58 份样品的近红外光谱叠加图

Fig 1 The stacking chart by near-infrared spectroscopy of 58 samples

2.2 HPLC 测定丹参酮 II A 的含量

2.2.1 色谱条件 流动相: 甲醇-水(75:25);检测波长: 270 nm;温度: $30 \text{ }^\circ\text{C}$;色谱柱: Dikma Dia-monsil C_{18} 分析柱($250 \text{ mm} \times 4.6 \text{ mm}$, $5 \mu\text{m}$)。理论板数按丹参酮 II A 峰计算应不低于 2 000。分离度符合要求,结果见图 2。

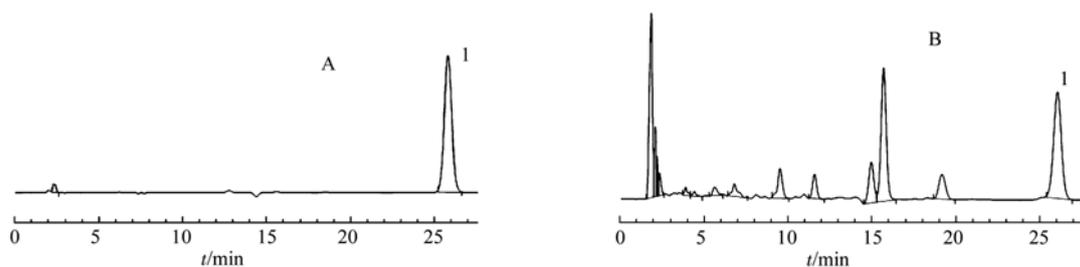


图2 高效液相色谱图

A-对照品溶液; B-供试品溶液; 1-丹参酮II A

Fig 2 HPLC chromatograms

A-control; B-sample; 1-tanshinone II A

2.2.2 对照品溶液的制备 取丹参酮II A 对照品 10 mg, 精密称量, 置 50 mL 棕色量瓶中, 加甲醇至刻度, 摇匀。精密量取 2 mL, 置 25 mL 棕色量瓶中, 加甲醇至刻度, 摇匀, 即得

2.2.3 供试品溶液的制备 0.3 g 粉末加入具塞锥形瓶中, 加甲醇 50 mL, 称重, 加热回流 1 h, 放冷, 称重, 用甲醇补足重量, 摇匀, 过滤, 取续滤液, 过 0.22 μm 微孔滤膜即得。

2.2.4 含量测定 分别精密吸取对照品与供试品溶液各 5 μL 进样, 按“2.2.1”项下色谱条件进行测定, 并由外标法计算含量。每份样品平行测 2 次, 求平均值。

2.3 PLS 建模的方法

应用 TQ 8.0 软件, 将 58 份丹参样品的近红外光谱图和 HPLC 测定的丹参酮II A 的含量值输入其中, 去除一个异常值, 将样品随机分为校正集和验证集, 同时还要保证验证集的含量范围在校正集的含量范围之内^[8], 见表 1。采用偏最小二乘法(PLS)建立定量分析模型, 验证集验证该模型, 进而根据近红外定量校正模型的主要参数 R^2 、内部交叉验证均方差(RMSECV)、预测均方差(RMSEP)值确定最优模型。 R^2 越大、RMSECV 越小, 表明模型结构越合理; RMSEP 越小, 表明模型的预测性能和推广能力越强。

表1 校正集和验证集中丹参酮II A 含量分布

Tab 1 The range of tanshinone II A content from calibration and validation

样品	样品数	含量范围/%
校正集	46	0.185 5~0.618 2
验证集	11	0.171 5~0.685 4

3 结果与分析

3.1 丹参酮II A 定量校正模型的建立

3.1.1 建模区间的选择 近红外光谱的扫描范围

是 12 000~4 000 cm^{-1} , 在这个范围内包含待测组分的信息, 但也包含了一些冗余信息。因此, 在建模时要求选择的区间尽量避免冗余信息和降低噪音干扰, 同时还要包含大量待测组分的信息, 这样才能获得最佳的预测效果。利用 TQ 8.0 软件进行筛选, 最佳建模波段范围是 4 186.14~6 830.05 cm^{-1} , 见表 2。

表2 建模谱区的选择

Tab 2 Selection of different spectra for modeling

光谱范围/ cm^{-1}	R^2	RMSECV
4 186.14~6 830.05	0.996 94	0.011 8
4 204.35~9 106.03	0.996 62	0.012 4
6 438.91~11 980.62	0.800 56	0.090 4
4 058.36~11 975.86	0.793 72	0.091 7

3.1.2 光谱数据的预处理 在近红外采集光谱时, 由于外部环境、仪器工作状态、样品物理性质的差异, 会对模型的建立造成比较大的影响。通过对光谱进行预处理可以最大限度的减少影响, 常采用一阶导数、二阶导数、平滑处理, 多元散射校正、矢量归一化等方法对原始光谱进行预处理后再进行定标, 从而建立更准确的模型。不同处理方法处理的结果见表 3, 二阶导数+矢量归一化法的预处理方法效果最好。

表3 不同预处理方法的选择

Tab 3 Selection of different spectra processing methods

光谱预处理方法	R^2	RMSECV
多元散射校正	0.9655 8	0.039 2
矢量归一化	0.9494 4	0.047 3
二阶导数	0.9879 7	0.023 3
二阶导数+多元散射校正	0.963 82	0.075 7
二阶导数+矢量归一化	0.996 94	0.011 8

3.1.3 主成分数的选择 本实验采用 PLS 建立定量分析模型, 主成分数对模型的预测能力有较大影响。以校正样品集 RMSECV 为优化参数, 选择最适主成分数, 当 RMSECV 值最小时, 所选主成分数最佳^[9]。最佳主成分数为 5, 结果见图 3。

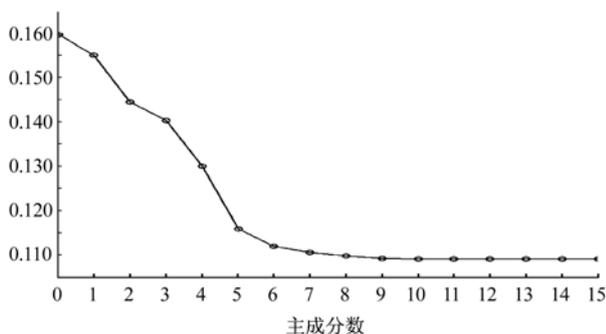


图 3 RMSECV 与主成分数之间的相关图

Fig 3 The correlation between RMSECV and main fraction

3.1.4 校正模型的建立 通过以上数据处理、筛选, 建模范围为 $4\ 186.14\sim 6\ 830.05\ \text{cm}^{-1}$, 采用二阶导数+矢量归一化法, 主因子数为 5。此时, 58 份丹参样品其中 47 批用于建立模型, 校正集相关系数 R^2 为 0.996 94, 交互验证均方根偏差 RMSEC 为 0.011 8, 预测均方根偏差 RMSEP 为 0.023 7。

3.2 丹参酮 II A 定量校正模型的验证

依据上述所建立的模型, 将验证集样品的近红外光谱代入模型中, 得到 NIR 预测值, 将 HPLC 的测定值作为参考值对模型进行检验。结果见表 4。

表 4 11 批预测集样品的近红外模型预测值

Tab 4 The predictive value of 11 samples

编号	实际相对百分含量/%	预测相对百分含量/%	绝对误差/%	相对误差/%	平均相对误差/%
4	0.455 4	0.465 7	0.010 3	2.261 7	
9	0.461 8	0.458 5	0.003 3	0.789 5	
14	0.411 7	0.415 5	0.003 8	0.923 0	
19	0.472 3	0.462 5	0.009 8	2.075 0	
21	0.468 3	0.475 3	0.007 0	1.494 8	
30	0.618 2	0.614 4	0.003 8	0.614 7	1.712 9
34	0.535 4	0.534 3	0.001 1	0.205 5	
39	0.466 7	0.452 5	0.014 2	3.042 6	
42	0.507 7	0.517 0	0.009 3	1.831 8	
46	0.237 2	0.246 4	0.009 2	3.878 6	
54	0.185 5	0.188 7	0.003 2	1.725 1	

经计算可知预测集平均相对误差为 1.712 9%。预测结果较为准确, 建模成功。

4 讨论

应用近红外光谱技术结合 PLS 法, 建立的校正模型可以较为准确的预测出丹参中丹参酮 II A 的含量, 且近红外光谱法简便、快速、无损、无污染, 是应用于企业生产中在线检测丹参质量的理想的方法。

本次实验与制药企业合作, 以期将近红外技术进行推广, 应用到中成药生产中原料药的质量控制。通过这种方法可以有效的节约工厂的人力、物力, 从而真正将实验室研究成果应用到社会生产, 加快中药的现代化进程。

REFERENCES

- [1] Ch.P(2010)Vol II (中国药典 2010 年版. 二部) [S]. 2010: Appendix 70.
- [2] ZHAO B L, QIAN F, LIU X Y. Distribution and exploitation of *Salvia miltiorrhizae* resources. Reserach and practice of Chinese medicines [J]. Res Pract Chin Med(现代中药研究与实践), 2009, 23(2): 17-19.
- [3] GOU Z P, LÜ Y N, GONG X L, et al. Review of varieties and identification of traditional Chinese herb "Danshen" [J]. Lishizhen Med Mater Med Res(时珍国医国药), 2008, 19(12): 2869-2871.
- [4] SHEN J f, WANG H, WANG Q, et al. Analysis of tanshinone constituents in Radix et Rhizoma Salviae Miltiorrhizae by HPLC-MS(n) [J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药学), 2010, 27(10): 944-947.
- [5] WANG Z B, WANG W L, ZHU M W, et al. Content determination of tanshinone II A in Sengpuzhitong capsule by HPLC [J]. Her Med(医药导报), 2011, 30(3): 372-373.
- [6] WANG L, GONG M X, WANG Z M, et al. Salviae Miltiorrhizae Radix et Rhizoma by infrared spectroscopy [J]. Chin J Exp Tradit Med Form(中国实验方剂学杂志), 2010, 16(5): 34-37.
- [7] QU L, HAO F D. Appreciation of *Salvia miltiorrhiza* Bge [J]. Chin J Mod Drug Appl(中国现代药物应用), 2009, 3(12): 196-197.
- [8] ZHANG A J, DAI N, ZHAO G L. Study of near infrared on-line detection for industrialization of *Salvia miltiorrhizae* extracting [J]. Chin Tradit Herb Drugs(中草药), 2010, 41(2): 238-340.
- [9] LI Y M, GUO J Y, CHEN Q X, et al. Non-destructive analysis of Belladonna powder [J]. Life Sci Instrum(生命科学仪器), 2009, 8(2): 50-52.

收稿日期: 2011-09-29