

表 1 复方颗粒剂中苍术苷的加样回收率试验

Table 1 Recoveries for the assay of atractyloside in Compound Granula

已知含量 / μg	加入量 / μg	测得量 / μg	回收率 / %	RSD / %
5.175	5.200	10.10	94.71	6.27
5.175	5.200	9.85	89.81	
5.175	5.200	10.27	97.98	
5.175	5.200	10.64	105.10	
5.175	5.200	9.78	88.64	
5.175	5.200	10.22	96.02	

注：回收率 = (加入量 - 已知含量) / 加入量 $\times$ 100 %

表 2 复方颗粒剂中苍术苷的含量测定($n=3$)

Talbe 2 Contents of atractyloside in Compound Granula containing Fructus Xanthii($n=3$)

样品	产地	批号	含量 / $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$
辛芩颗粒	四川	111007	69.7
鼻咽清毒颗粒	广东	1045	141.7
通窍鼻炎颗粒	四川	111004	358.2
鼻渊通窍颗粒	山东	0021110051	50.4

敏、准确，3 min 即可完成一个样品的测定，0.2 mL $\cdot$ min⁻¹ 的较低流速也使得有机溶剂用量非常少，不仅方便、快捷，也十分经济环保，可适用于含苍耳子的中成药制剂毒性成分苍术苷的含量测定。

研究对提取条件进行了优化，比较了不同提取方法(超声和回流)，不同提取溶媒(50 %甲醇、20 % 甲醇以及纯水)，不同提取时间(0.5, 1, 2 h)苍术苷的提取效率，结果显示，采用 20 % 甲醇超声提取 1 h 提取率最高，结果稳定，重现性好。

在色谱条件优化中，考察了流速(0.2~0.4 mL $\cdot$ min⁻¹)，柱温(30 $^{\circ}\text{C}$ ，35 $^{\circ}\text{C}$ ，40 $^{\circ}\text{C}$)对色谱行为的影响，研究了乙腈 / 水流动相系统中加入不同缓冲盐(乙酸铵、甲酸铵、乙酸、甲酸)对色谱行为及质

谱响应的影响，结果表明，采用乙腈 -10 mmol 乙酸铵(85 : 15)为流动相，流速 0.2 mL / min，柱温设置在35 $^{\circ}\text{C}$ 时目标化合物峰形对称、保留时间稳定。

在质谱条件的优化过程中，考察了干燥气流速(3~6 L $\cdot$ min⁻¹)，雾化气压力(30~40 psi)，毛细管压力(2500~ 4000 psi)等质谱条件的影响，比较了 ESI 正负离子模式下目标化合物的质谱响应，结果表明，3 L $\cdot$ min⁻¹ 干燥气流速可以达到要求，30 psi 雾化气压力及 3000 psi 毛细管压力较合适，ESI 负离子模式下，目标化合物的选择性好且灵敏度高。

参考文献：

[1] 王秀娟, 许利平, 王敏. 常用中药及复方制剂的肝毒性[J]. 首都医科大学学报, 2007, 28(2): 220-224.

[2] Bouziri A, Hamdi A, Menif K, et al. Hepatorenal injury induced by cutaneous application of *Atractylis gummifera* L[J]. Clin Toxicol(Phila), 2010, 48: 752-754.

[3] Obatomi DK, Blackburn RO, Bach PH. Effects of the calcium channel blocker verapamil and sulphhydryl reducing agent dithiothreitol on a-tractyloside toxicity in precision-cut rat renal cortical and liver slices[J]. Food Chem Toxicol, 2001, 39: 1013-1021.

[4] Obatomi DK, Bach PH. Atractyloside nephrotoxicity: in vitro studies with suspensions of rat renal fragments and precision-cut cortical slices[J]. In Vitro Mol Toxicol, 2000, 13: 25-36.

[5] Daniele C, Dahamna S, Firuzi O, et al. *Atractylis gummifera* L. poisoning: an ethnopharmacological review [J]. J of Ethnopharmacol, 2005, 97: 175-181.

[6] Zaim N, Guemouri L, Lamnaouer D, et al. Study of four cases of poisoning by *Atractylis gummifera* L. in morocco[J]. Therapie, 2008, 63(1): 49-54.

[7] 徐宁, 黄留业, 李绥军. 大剂量苍耳子中毒致急性肝功损害 1 例 [J]. 滨州医学院学报, 2010, 33(3): 191.

[8] 李秀婷. 儿童苍耳子中毒 12 例抢救体会[J]. 现代中西医结合杂志, 2003, 12(7): 746-747.

(编辑：宋威)

温郁金和桂郁金红外光谱的 SIMCA 聚类鉴别方法研究

郭 昊¹, 杜伟锋¹, 蔡宝昌^{1,2}, 丛晓东¹, 葛卫红¹(1. 浙江中医药大学中药炮制技术中心, 浙江 杭州 311401; 2. 南京中医药大学江苏省中药炮制重点实验室, 江苏 南京 210049)

摘要：目的 以温郁金和桂郁金的红外光谱为聚类分析对象，研究红外光谱结合(Soft independent modeling of classanalogy, SIMCA)聚类分析法对温郁金和桂郁金进行识别与分类的可行性。方法 以 4000~650 cm⁻¹ 范围

收稿日期：2012-12-13
作者简介：郭昊，女，硕士研究生，主要从事中药炮制及质量标准研究。Email: guohao0223@163.com。通讯作者：杜伟锋，男，助理研究员，主要从事中药炮制及质量标准研究。Email: duweifeng_200158@sohu.com。
基金项目：卫生部科学研究基金(WKJ2010-2-019)；浙江省中医药科学研究基金计划(2012ZB032)；浙江省教育厅科研计划(Y201224449)。

内的红外光谱为对象,通过基线补偿(Offset)和散射校正(MSC)等预处理后,采用 SIMCA 聚类分析法建立识别模型。**结果** 所建模型对温郁金和桂郁金的识别率分别达到 97 %和 98 %,拒绝率均为 100 %。对所建模型测试结果正确。**结论** 该方法可实现对温郁金和桂郁金的快速鉴别。

关键词: 郁金; 红外光谱法; SIMCA 聚类分析; 无损鉴别

中图分类号: R284.1 **文献标志码:** A **文章编号:** 1003-9783(2013)03-0300-04

doi: 10.3969/j.issn.1003-9783.2013.01.025

Identification of *Curcuma wenyujin* Y.H.Chen et C.Ling and *Curcuma kwangsiensis* S.G. Lee et C.F. Liang by IR and SIMCA Clustering Analysis

GUO Hao¹, DU Weifeng¹, CAI Baochang^{1,2}, CONG Xiaodong¹, GE Weihong¹ (1. Research Center of Chinese Medicine Processing Technology, Zhejiang Chinese Medical University, Hangzhou 311401 Zhejiang, China; 2. Jiangsu Key Laboratory of Chinese Medicine Processing, Nanjing University of Traditional Chinese Medicine, Nanjing 210029 Jiangsu, China)

Abstract: Objective With the infrared spectrum of *Curcuma wenyujin* Y.H. Chen et C. Ling and *Curcuma kwangsiensis* S.G. Lee et C.F. Liang as the object, the feasibility of identification and classification of *Curcuma wenyujin* Y.H. Chen et C. Ling and *Curcuma kwangsiensis* S.G. Lee et C.F. Liang was studied by using infrared spectroscopy coupled with SIMCA (soft independent modeling of class analogy) pattern recognition method. **Methods** In the spectra region between 4000 ~ 650 cm⁻¹, two models of *Curcuma wenyujin* Y.H. Chen et C. Ling and *Curcuma kwangsiensis* S.G. Lee et C.F. Liang were built separately after preprocessing by baseline correction(offset) and multiplicative scatter correction (MSC) with SIMCA pattern recognition method. **Results** The result showed that the recognition rate was 97 % for *Curcuma wenyujin* Y.H.Chen et C.Ling and was 98 % for *Curcuma kwangsiensis* S.G.Lee et C.F.Liang, and the rejection rate of them both was 100 %. The method was tested in the blind samples, and satisfactory results were achieved. **Conclusion** *Curcuma wenyujin* Y.H.Chen et C. Ling and *Curcuma kwangsiensis* S.G. Lee et C.F. Liang could be identified rapidly by the combination of IR fingerprint spectrum and clustering analysis.

Keywords: Radix Curcuma; Infrared spectroscopy; SIMCA clustering analysis; Undamaged identification

郁金为姜科植物温郁金 *Curcuma wenyujin* Y.H. Chen et C.Ling、姜黄 *Curcuma longa* L.、广西莪术 *Curcuma kwangsiensis* S.G.Lee et C.F.Liang 或蓬莪术 *Curcuma phaeocaulis* Val.的干燥块根。前两者分别习称“温郁金”和“黄丝郁金”,其余按性状不同习称“桂郁金”或“绿丝郁金”^[1]。因药材的产区不同,化学成分的积累不同,则药效和药性也不尽相同^[2-3]。因此,药材产区的鉴别对于药材市场的质量控制以及提高药材的质量显得较为重要。目前,市场上流通的郁金中温郁金较少,且存在以其他产地郁金冒充温郁金的现象。桂郁金产量高,价格低廉,但从含量测定结果可以看出,温郁金中吉马酮的含量远远高于桂郁金,故温郁金与桂郁金应区别对待。红外光谱是一种能够从宏观上评价中药材质量的有效分析方法,已在中药材鉴别和质量评价方面得到了广泛的应用^[4-6]。本实验采用(Soft independent modeling of class analogy, SIMCA)聚类分析法对温郁金和桂郁金进行了聚类分析,为快速有效鉴别温郁金和桂

郁金提供了方法参考。

1 仪器与材料

1.1 仪器 Spectrum 100 型傅里叶变换红外光谱仪,中红外 DTGS 检测器,衰减全反射(ATR)检测附件,扫描范围 4000~650 cm⁻¹,扫描信号累加 16 次,光谱分辨率 4 cm⁻¹,衰减全反射压力常数为 100,背景采集方式为采集样品前采集一个背景,红外图谱采集及分析采用 Spectrum V6.0 操作软件,Perkin-Elmer 公司。

1.2 样品来源和光谱采集 90 批郁金药材分别从浙江、安徽、江苏、河北等药材市场购买,其中,温郁金 42 批和桂郁金 48 批。经浙江中医药大学饮片有限公司郑建宝主管中药师鉴定,分别为姜科植物温郁金 *Curcuma wenyujin* Y. H. Chen et C. Ling.和广西莪术 *Curcuma kwangsiensis* S.G.Lee et C.F.Liang 干燥块根的饮片,分别习称温郁金和桂郁金。样品均粉碎成粉末过 4 号筛,取少量试样放置在衰减全反

射的钻石頭上，加到压力常数为 100 后开始扫描，得到红外谱图，对每份样品粉末测定 3 次，取其平均谱图为最后的样品谱图。

1.3 数据处理 采用 Perkin-Elmer 公司提供的 Quant+ 和 SIMCA 软件进行数据处理。

2 结果

2.1 温郁金和桂郁金的红外光谱比较 图 1 为两个有代表性的温郁金和桂郁金的红外光谱图。红外光谱图综合反映了郁金化学成分具有多样性和复杂性。虽然温郁金和桂郁金的红外光谱吸收峰的峰形和峰位存在很大的相似性，但某些吸收峰的峰形及峰强度的差异还是为两类郁金鉴别提供了理论依据。

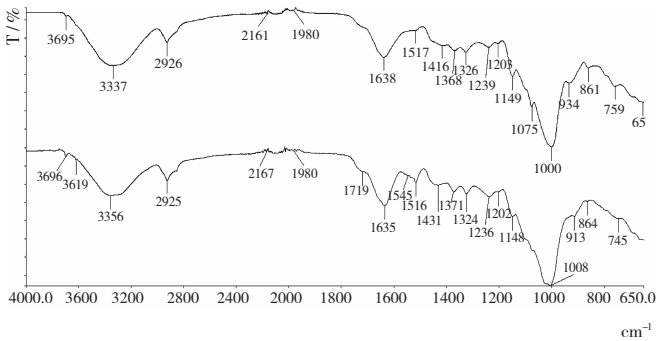


图 1 桂郁金(上)和温郁金(下)的红外光谱
Figure 1 The infrared sepectrum of *Curcuma wenyujin* Y.H.Chen et C.Ling(down) and *Curcuma kwangsiensis* S.G.Lee et C.F.Liang (up)

2.2 温郁金和桂郁金的聚类分析 由于温郁金和桂郁金的红外谱图相似度较高，难以从表观上进行指纹特征提取。因此，选用 SIMCA 聚类分析方法，提取上述郁金红外光谱差异性的特征，并进行聚类以实现

对温郁金和桂郁金的智能识别。
2.2.1 温郁金和桂郁金模型的建立和训练 随机选取温郁金和桂郁金作为训练集，采用 Perkin-Elmer 公司的 Quant+ 软件，建立已知温郁金和桂郁金模型，并训练该模型。这需要对红外光谱选择最优化的预处理条件，以建立最优模型，达到最优聚类的目的。在模型建立过程中，应选择谱峰较多，信息丰富的区域。本研究选择 4000~650 cm⁻¹ 范围内的波段，同时对谱图进行多元散射校正(MSC)，以保证谱图的规范化。
2.2.2 模型的诊断 在模型诊断阶段，通过综合分析比较，选择的计算方案和参数分别是采用 4000~650 cm⁻¹ 的光谱信息，对基线进行补偿(Offset)；对 4000 ~ 650 cm⁻¹ 波数范围进行散射校正(MSC)，以保证谱图的规范化。

在聚类分析中，一般采用聚类中心之间的距离(类间距)评价聚类效果，而聚类结果好坏的关键则是合适特征的选取。得到类间距的数值越大，表明类与类之间的差异越明显。本实验温郁金和桂郁金模型

的类间距为 58.13。
此时，需要再求出温郁金和桂郁金的识别率和拒绝率。识别率(recognition rate)和拒绝率(rejection rate)反映的是所建模型的可信度^[7]。识别率是指某产地样本被该产地模型正确识别的比例；而拒绝率是指某产地模型对于不属于该产地的样本的拒绝程度，即将不属于该产地的样本排除在模型之外。识别率和拒绝率的值越大，说明模型的鉴别能力越强，当两值均为 100 % 时，表明各产地样本之间没有重叠，可以完全区分。温郁金和桂郁金各自的识别率和拒绝率如表 1 所示。

表1 温郁金和桂郁金模型的识别率和拒绝率
Table 1 The recognition rate and rejection rate of *Curcuma wenyujin* Y.H.Chen et C.Ling and *Curcuma kwangsiensis* S.G.Lee et C.F.Liang models

类别	识别率/%	拒绝率/%
温郁金	97(36/37)	100(43/43)
桂郁金	98(42/43)	100(37/37)

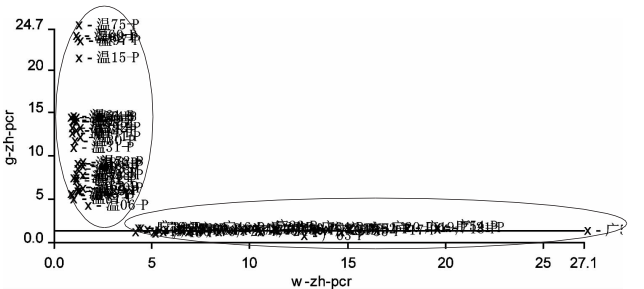


图 2 温郁金和桂郁金的聚类图
Figure 2 The dendrogram of *Curcuma wenyujin* Y.H.Chen et C.Ling and *Curcuma kwangsiensis* S.G.Lee et C.F.Liang

以温郁金的样品集合为横坐标，桂郁金的样品集合为纵坐标，得到聚类分析图(图 2)，从图中可以看出，温郁金和桂郁金的聚类结果比较理想，两者之间没有重叠，互不干扰，分类的结果比较理想。因此，在选择好一定的预处理方法，如多元散射校正、基线平滑后，此聚类方法基本可行。可以预见，随着每类样品个数的增加，可以从中提取的共性信息也会增加，使方法更为可靠。
2.2.3 模型的检验 当模型建好后，鉴定模型的可行性就显得更为重要。因此，需要对所建模型进行检验，检验结果识别率和拒绝率同上，因此不重复说明。

2.2.4 利用模型对未知样品进行分类 模型经过检验合格后, 就可以对未知物进行分类。Perkin-Elmer 公司的 SIMCA 方法中提供了一套参数, 它既可用于描述某类特性, 又是描述其他量的基础^[8]。

表 2 所示为某一未知郁金样品的聚类结果, 同时给出了该未知样品属于温郁金或桂郁金的可能性, 所谓可能性就是指未知光谱属于某类物质的可能性。如果显示的可能性是“0”或“-”, 则表示未知光谱是他类物质。结果表明, 利用此模型对桂郁金进行分类, 认为其是桂郁金的可能性为 88.47 %, 说明该模型具有较强的识别能力。光谱残差(Spectral residuals): 光谱拟合到所建模型时所产生的差异。建模残差(Model residuals), 又称马氏(Mahalanobis)残差, 指的是类空间内某点与多维假想空间的残差。组合残差: 为了给出一个更加可靠和灵敏的变量用以鉴别从属关系, 于是将上述两种残差合二为一, 称为组合残差(Combined residuals)。用公式^[9]表示为: 组合残差²= 光谱残差²+ 建模残差²。

表 2 模型对某一未知样品的预测结果

Table 2 The predictive result of an unknown sample by the established model

类别	光谱残差	建模残差	组合残差	可能性
桂郁金	0.831	0	0.831	0.8847
温郁金	6.071	15.39	16.54	0

图 3 为该未知样品的聚类分析图, 图中横坐标为建模残差, 纵坐标为光谱残差, 弧线内是落在聚类模型的未知样品, 而桂郁金的标准集合也即在此聚类模型内, 可认定该未知样品为桂郁金, 结果与实际相符。

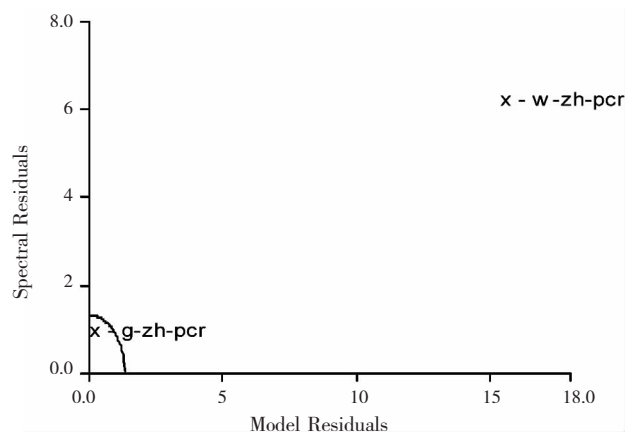


图 3 未知样品的聚类分析图
Figure 3 Cludter analysis of unknown sample

将剩余的样品作为预测集进行预测, 结果温郁

金和桂郁金的正确识别率分别为 5/5, 4/5, 达到了模型识别常规要求正确识别率 60 % 以上的标准^[10], 说明该法用于温郁金和桂郁金的鉴别基本可行。

3 讨论

红外光谱鉴定法只需少量样品粉末, 使用光谱仪收集谱图, 进行数据处理即可得出鉴定结果, 具有方便、快速、准确、灵敏、经济等特点^[11]。本实验基于红外光谱技术, 采用 SIMCA 聚类分析法对温郁金和桂郁金进行了聚类分析。通过对原始光谱图分析发现, 温郁金和桂郁金的化学成分存在一定的差异, 但尚不能从原始图谱上进行直接区分。采用 SIMCA 模式识别法对温郁金和桂郁金进行分析, 其识别率均在 95 % 以上, 可见该方法有较强的识别能力, 可以作为一种快速鉴别温郁金和桂郁金的方法。

郁金药材为市场采购, 由于受产地土质、气候环境、药材的加工和储存等因素的影响, 同种药材的成分含量会有所差异, 但大都在规定的范围内, 符合本实验建模的要求, 且实验样本数均在 30 批以上, 使得鉴别的准确率有所提高, 可靠性增加。

参考文献:

[1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(一部)[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2010: 274.

[2] 徐永群, 黄昊, 周群, 等. 红外指纹图谱和聚类分析法在赤芍产域分类鉴别中的应用[J]. 分析化学, 2003, 31(1): 5-9.

[3] 董彬, 孙素琴, 秦竹, 等. 聚类分析法在野生赤芍快速鉴别中的应用研究[J]. 计算机与应用化学, 2002, 19(1): 89-92.

[4] 黄冬兰, 陈小康, 徐永群, 等. 纹党参与白条党参红外光谱的 SIMCA 聚类鉴别方法研究[J]. 分析化学, 2009, 37(12): 75.

[5] 黄冬兰, 陈小康, 徐永群, 等. 纹党参与白条党参红外光谱的 SIMCA 聚类鉴别方法研究[J]. 分析测试学报, 2009, 28(12): 1440-1443.

[6] 毛晓丽, 郑娟梅, 李自达, 等. 基于 FTIR 的两种模式识别方法在两面针产地鉴别中的应用[J]. 光谱学与光谱分析, 2011, 31(10): 2697-2701.

[7] 孙素琴, 汤俊明, 袁子民, 等. 道地山药红外指纹图谱和聚类分析的鉴别研究[J]. 光谱学与光谱分析, 2003, 23(2): 258-261.

[8] 徐荣, 孙素琴, 刘友刚, 等. 红外光谱与聚类分析法无损快速鉴别肉苁蓉[J]. 光谱学与光谱分析, 2009, 29(7): 1860-1863.

[9] 周群, 孙素琴, 梁曦云. 枸杞产地的红外指纹图谱与聚类分析法研究[J]. 光谱学与光谱分析, 2003, 23(3): 509-511.

[10] 雁雁, 鲍红娟, 王东, 等. 红外光谱和聚类分析法在药用菊花产域分类鉴别中的应用[J]. 中药材, 2006, 29(7): 663-665.

[11] 沈亮, 蒋舜媛, 黄荣韶, 等. 红外光谱法结合系统聚类法和 SIMCA 模式识别法快速鉴别羌活种子[J]. 中草药, 2011, 42(10): 2114-2118.

(编辑: 宋威)