

姜黄挥发油毛细管气相色谱指纹谱的标准化和数字化研究

杭太俊,张正行,相秉仁,安登魁

(中国药科大学 药物分析室,江苏 南京 210009)

摘要:目的 建立姜黄挥发油毛细管气相色谱指纹谱数据的标准化和数字化表征方法。方法 在不同色谱条件下进行 GC 指纹谱测定,以系列正构烷烃为参比,按多项式回归分析计算各谱峰的保留指数。结果 对 8 主峰的分析结果表明,各峰保留指数的重复性比相对于基峰的相对保留值更优越。结论 采用多参比指标建立的指纹谱数字化标准,对中药质量控制更科学有效。

关键词:姜黄;挥发油;GC 指纹谱;保留指数;标准化;数字化

中图分类号: R282. 6; R286. 02 文献标识码: A 文章编号: 0253-2670(2003)09-0793-05

Standardization and digitization of fingerprint gas chromatograms of essential oil of *Curcuma longa*

HANG Tai-jun, ZHANG Zheng-xing, XIANG Bing-ren, AN Deng-kui

(Department of Pharmaceutical Analysis, China Pharmaceutical University, Nanjing 210009, China)

Abstract **Object** To establish the standardization and digitization methods for gas chromatographic fingerprint chromatograms of the essential oil of *Curcuma longa* L. **Methods** A polynomial regression analysis technique was established for the calculation and prediction of the gas chromatographic retention indices by using a series of normal aliphatic hydrocarbons as the reference standards. And it was used for the characterization of the features of the gas chromatographic fingerprint spectra of the essential oil of *C. longa*. **Results** It was approved that retention indices of the gas chromatographic fingerprint spectra obtained at a variety of conditions were stable and reliable with excellent reproducibility, and fairly good ruggedness. It was also much better than the relative retention time indices. **Conclusion** The fingerprint spectra standard established on the multiple references basis are much more reasonable and useful for the practical quality assurance and validation of Chinese herbals.

Key words *Curcuma longa* L.; essential oil; GC fingerprint spectra; retention indices; standardization; digitization

如何保障独具特色的中药安全、有效、质量稳定,并可测控、可监督一直是中药研究与应用的重点和难点问题,也是中药实现现代化所面临的重要课题。国内外研究人员已认识到建立在中药成分系统研究基础之上的指纹图谱对于中药内在质量评价和控制的重要作用。因此,全面反映所含特征成分的指纹谱标准的建立,将更加有效地体现中药成分的复杂性,从而为更好地进行中药质量的评价和控制奠定基础^[1]。目前中药指纹谱研究方法包括色谱(TLC, HPLC, HPCE, GC)和光谱(IR, UV, NMR, X-ray)测定的全部技术。然而,指纹谱标准欲真正实现专属、可靠、可重现,并满足质量评价和控制的目的与要求,尚有大量研究工作有待完善。利用指纹谱标准来实施中药质量的稳定可控的首要工作是实现

指纹谱测定采集方法或技术的稳定可靠,及其专属性、重复性和耐用性的优越。

本实验利用毛细管气相色谱法对姜黄中挥发油气相色谱指纹谱的标准化和数字化进行了研究。考察了利用系列正构烷烃为参比建立的保留指数对姜黄挥发油气相色谱指纹特征数据的表征。结果表明,指纹谱的保留指数表征具有良好专属性、稳定性、重复性和耐用性。对中药指纹谱标准研究具有良好的指导意义。

1 材料和方法

1.1 药材:姜黄为姜科植物姜黄 *Curcuma longa* L. 的干燥根茎,购于江苏省医药公司药材站,并经南京师范大学生命科学学院龚祝南副教授鉴定。

1.2 姜黄挥发油提取:采用《中华人民共和国药典》

收稿日期: 2002-12-13

作者简介: 杭太俊(1963-),男,博士,副教授,研究生导师,主要从事药物分析工作,研究领域包括中西药质量分析与控制、药物体内分析研究、中药指纹谱研究等。E-mail: hangtj@cpu.edu.com Tel: (025) 3271090(0)

2000年版一部附录 XD规定的挥发油测定乙法提取。取药材粉末 5 g,加水 300 mL浸泡过夜后,加环己烷 3 mL,依法水蒸汽蒸馏得挥发油的环己烷溶液。避光冷藏,备用。

1.3 气相色谱条件: HP5890气相色谱仪, HS2000色谱数据工作站。聚甲基硅氧烷柱: HP-1 (25 m× 0.32 mm, 0.52 μm, 1989年出品, 美国惠普公司), HP-1 (25 m× 0.32 mm, 0.52 μm, 2000年出品, 美国惠普公司), DB-1 (25 m× 0.32 mm, 0.52 μm, 1998年出品, 美国 J & W 科技公司)。高纯氮载气, 分流比 50: 1, 气化室温度 250℃, 检测器 (FID) 温度 300℃, 进样量 2 μL。采用峰面积归一化法表示各色谱成分的含量。

聚乙二醇柱: HP-Innowax (30 m× 0.25 mm, 0.25 μm, 2000年出品, 美国惠普公司), 高纯氮载气, 分流比 50: 1, 气化室温度 250℃, 检测器 (FID) 温度 300℃。进样量 2 μL。采用峰面积归一化法表示各色谱成分的含量。

2 结果

2.1 聚甲基硅氧烷柱 GC指纹谱数据表征分析

Table 1 Retention time of eight main peaks in GC chromatograms of essential oil in *C. longa* obtained at different conditions

柱前压 /kPa	起始温度 /℃	<i>t_R</i> /min							
		1	2	3	4	5	6	7	8
40	40	31.55	32.10	32.56	33.01	36.73	37.03	37.93	39.12
	50	29.04	29.59	30.05	30.50	34.20	34.50	35.02	37.07
	60	26.50	27.03	27.50	27.94	31.64	31.94	32.45	34.50
50	40	30.00	30.54	31.00	31.42	35.12	35.42	36.30	38.32
	50(图 1)	27.57	28.14	28.57	29.02	32.72	33.02	33.89	35.52
	60	25.49	26.03	26.48	26.92	30.03	30.32	31.20	33.23
60	40	28.98	29.53	29.98	30.40	34.07	34.36	35.23	37.89
	50	26.85	27.40	27.85	28.27	31.95	32.25	33.12	35.12
	60	24.38	24.93	25.38	25.86	29.08	29.38	30.25	32.25
<i>t_R</i> /min		27.82	28.37	28.82	29.26	32.84	33.14	33.93	35.89
RSD /%		8.19	8.03	7.92	7.77	7.46	7.39	7.24	6.59

2.1.2 相对于基峰的相对保留值表征分析: 对不同条件下测得的数据, 采用相对于基峰的相对保留值来表征各峰的保留行为^[2], 结果见表 2。相对保留值的变异相对较小, 可比性良好。

2.1.3 保留指数表征分析: 气相色谱中, 常常以系列正构烷烃为参比来测算被测成分的保留指数并进行定性分析。有两种类型: 一为恒温条件下的 Kovats 保留指数 (KI)^[3], 另一为线性程序升温条件下的线性插值保留指数 (RI)^[4]。中药挥发油中包含大量成分, 恒温条件下无法实现良好分离测定。单纯线性升温条件下进行测定也不能满足各种不同样品的要求。实际样品分析大都采用多平台程序升温过程。

2.1.1 保留时间表征分析: 在 HP-1 (2000年出品) 柱上程序升温, 40℃, 50℃或 60℃ (2 min) $\xrightarrow{4^{\circ}\text{C}/\text{min}}$ 290℃ (2 min), 对姜黄挥发油以不同的柱前压和起始温度分别进行测定。典型图谱见图 1。色谱图中主峰数据见表 1。结果表明不同色谱条件下, 样品中各成分峰的保留时间差异具有显著性, 无可比性。

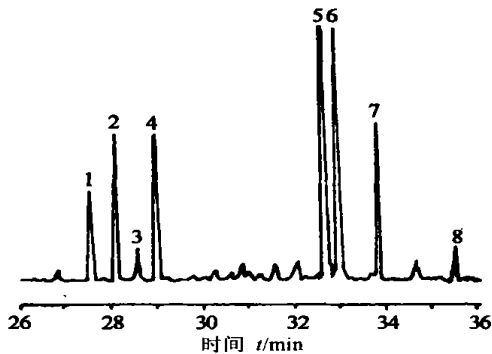


图 1 姜黄挥发油 HP-1 柱 GC 程序升温测定图谱

Fig. 1 GC chromatogram of essential oil in *C. longa* obtained with HP-1

表 1 姜黄挥发油不同条件下 GC 谱 8 主峰的保留时间

此时, 尽管在程序升温测定的全部范围内, 以系列正构烷烃为参比表征的保留指数无法用单一数学表达式计算, 但是在柱温程序变化的不同区域, 可以分段以多项式回归分析来比较准确地计算各组份的保留指数。

对不同条件下测得的姜黄挥发油 GC 谱, 以系列正构烷烃为参比, 利用多项式回归分析计算各成分峰的保留指数, 所得 8 主峰的保留指数值见表 3。与相对保留值相比, 在不同色谱条件下, 测得的保留指数值的变异更小, 可比性更好。

对姜黄挥发油, 在不同聚甲基硅氧烷柱及不同的升温速率条件下, 柱前压为 50 kPa, 起始温度为

50℃时,分别进行测定。8主峰的数据见表 4。值和以系列正构烷烃为参比计算的保留指数表征。
对表 4中的数据分别以相对于基峰的相对保留结果分别见表 5、6。

表 2 姜黄挥发油不同条件下 GC谱 8主峰相对于基峰的相对保留值

Table 2 Relative retention ratios of eight main peaks in GC chromatograms of essential oil in *C. longa* obtained at different conditions

柱前压 /k Pa	起始温度 /℃	相对保留值							
		1	2	3	4	5	6	7	8
40	40	0.859 0	0.873 9	0.886 5	0.898 7	1.000 0	1.008 2	1.032 7	1.065 1
	50	0.849 1	0.865 2	0.878 7	0.891 8	1.000 0	1.008 8	1.024 0	1.083 9
	60	0.837 5	0.854 3	0.869 2	0.883 1	1.000 0	1.009 5	1.025 6	1.090 4
50	40	0.854 2	0.869 6	0.882 7	0.894 6	1.000 0	1.008 5	1.033 6	1.091 1
	50	0.842 6	0.860 0	0.873 2	0.886 9	1.000 0	1.009 2	1.035 8	1.085 6
	60	0.848 8	0.866 8	0.881 8	0.896 4	1.000 0	1.009 7	1.039 0	1.106 6
60	40	0.850 6	0.866 7	0.880 0	0.892 3	1.000 0	1.008 5	1.034 0	1.112 1
	50	0.840 4	0.857 6	0.871 7	0.884 8	1.000 0	1.009 4	1.036 6	1.099 2
	60	0.838 4	0.857 3	0.872 8	0.889 3	1.000 0	1.010 3	1.040 2	1.109 0
平均相对保留值		0.846 7	0.877 4	0.890 9	1.000 0	1.000 0	1.009 1	1.033 5	1.093 7
RSD/%		0.88	0.76	0.67	0.60	—	0.07	0.53	1.36

表 3 姜黄挥发油不同条件下 GC谱 8主峰保留指数

Table 3 Retention indices of eight main peaks in GC chromatograms of essential oil in *C. longa* obtained at different conditions

柱前压 /k Pa	起始温度 /℃	保留指数							
		1	2	3	4	5	6	7	8
40	40	1 461	1 476	1 500	1 513	1 632	1 642	1 675	1 715
	50	1 458	1 485	1 490	1 505	1 632	1 644	1 674	1 720
	60	1 458	1 484	1 499	1 513	1 628	1 640	1 672	1 721
50	40	1 463	1 479	1 492	1 506	1 637	1 648	1 670	1 731
	50	1 462	1 479	1 493	1 507	1 634	1 645	1 679	1 726
	60	1 458	1 484	1 499	1 513	1 636	1 647	1 672	1 727
60	40	1 457	1 480	1 492	1 513	1 627	1 646	1 675	1 713
	50	1 457	1 475	1 498	1 502	1 631	1 643	1 677	1 724
	60	1 455	1 481	1 498	1 506	1 633	1 655	1 677	1 726
平均相对保留值		1 459	1 480	1 496	1 509	1 632	1 646	1 675	1 723
RSD/%		0.18	0.24	0.26	0.29	0.20	0.26	0.17	0.34

表 4 姜黄挥发油不同柱条件下 GC谱 8主峰保留时间

Table 4 Retention time of eight main peaks in GC chromatograms of essential oil in *C. longa* obtained with different capillary columns

色谱柱	升温速率 /(℃·min ⁻¹)	<i>t_R</i> /min							
		1	2	3	4	5	6	7	8
DB-1	2	45.57	46.64	47.53	48.32	55.51	56.07	57.78	60.11
DB-1	4	28.43	28.97	29.43	29.87	33.56	33.85	34.76	35.97
HP-1(1989)	2	43.64	44.70	45.59	46.34	53.57	54.09	55.77	58.19
HP-1(1989)	4	27.19	27.73	28.19	28.60	32.31	32.58	33.47	34.72
HP-1(2000)	3	34.15	34.87	35.47	36.03	40.91	41.25	42.43	43.99

2.2 聚乙二醇柱 GC指纹谱数据表征分析: 采用 HP-Innowax 柱对姜黄挥发油在不同条件下分析进行测定。典型图谱见图 2。8主峰的数据见表 7。
对表 7中的数据分别以相对保留值和保留指数进行表征。结果见表 8和表 9。

表 9的数据进一步表明,用保留指数进行指纹谱表征时,RSD大多在 0.3% 以内,比相对于基峰的相对保留值定位更精密。并且,在基峰位于指纹谱的

一端的情况下,仍只用相对于基峰的相对保留值表征指纹谱时,远端峰的相对保留值的偏差会更大。

3 讨论

根据姜黄挥发油 GC指纹谱测定可知,即使在相同的色谱条件下,也很难获得完全一致的指纹图谱。对特征峰的保留时间数据,以系列正构烷烃为参比,利用多项式回归分析计算可以表征为标准化 Kovats 保留指数。挥发油气相色谱的保留指数表征

表 5 姜黄挥发油不同条件下 GC谱 8主峰相对保留值

Table 5 Relative retention ratios of eight main peaks in GC chromatograms of essential oil in *C. longa* obtained with different capillary columns

色谱柱	升温速率 <i>t</i> /(℃·min ⁻¹)	相对保留值							
		1	2	3	4	5	6	7	8
DB-1	2	0.820 9	0.840 2	0.856 2	0.870 5	1.000 0	1.010 1	1.040 9	1.082 9
DB-1	4	0.847 1	0.863 2	0.876 9	0.890 0	1.000 0	1.008 6	1.035 8	1.071 8
HP-1(1989)	2	0.814 6	0.834 4	0.851 0	0.865 0	1.000 0	1.009 7	1.041 1	1.086 2
HP-1(1989)	4	0.841 5	0.858 2	0.872 5	0.885 2	1.000 0	1.008 4	1.035 9	1.074 6
HP-1(2000)	3	0.834 8	0.852 4	0.867 0	0.880 7	1.000 0	1.008 3	1.037 2	1.075 3
平均相对保留值		0.831 8	0.849 7	0.864 7	0.878 3	1.000 0	1.009 0	1.038 2	1.078 2
RSD/%		1.65	1.45	1.26	1.18	—	0.08	0.25	0.57

表 6 姜黄挥发油不同条件下 GC谱 8主峰保留指数

Table 6 Retention indices of eight main peaks in GC chromatograms of essential oil in *C. longa* obtained with different capillary columns

色谱柱	升温速率 <i>t</i> /(℃·min ⁻¹)	保留指数							
		1	2	3	4	5	6	7	8
DB-1	2	1461	1479	1494	1507	1631	1641	1672	1713
DB-1	4	1468	1485	1500	1514	1636	1646	1677	1719
HP-1(1989)	2	1460	1477	1492	1505	1632	1641	1671	1715
HP-1(1989)	4	1467	1485	1499	1513	1637	1646	1677	1720
HP-1(2000)	3	1465	1482	1497	1510	1634	1643	1673	1715
平均相对保留值		1464	1482	1496	1510	1634	1673	1774	1716
RSD/%		0.24	0.24	0.22	0.25	0.16	0.15	0.17	0.17

表 7 HP-Innowax柱上姜黄挥发油 GC谱 8主峰保留时间

Table 7 Retention time of eight main peaks in GC chromatograms of essential oil in *C. longa* obtained with HP-Innowax

柱前压 /kPa	升温速率 <i>t</i> /(℃·min ⁻¹)	<i>t_R</i> /min							
		1	2	3	4	5	6	7	8
80	4	21.05	24.95	25.10	26.39	26.55	37.42	38.94	39.31
70	4	21.99	25.86	26.01	27.32	27.48	38.41	39.95	40.31
80	3	24.69	29.90	30.09	31.75	31.99	46.22	48.21	48.71
70	3(图 2)	25.85	31.03	31.24	32.92	33.15	47.47	49.47	49.97

表 8 HP-Innowax柱上姜黄挥发油 GC谱 8主峰相对保留值

Table 8 Relative retention ratios of eight main peaks in GC chromatograms of essential oil in *C. longa* obtained with HP-Innowax

柱前压 /kPa	升温速率 <i>t</i> /(℃·min ⁻¹)	相对保留值							
		1	2	3	4	5	6	7	8
80	4	0.535 5	0.634 7	0.638 5	0.671 3	0.675 4	0.951 9	0.990 6	1.000 0
70	4	0.545 5	0.641 5	0.645 2	0.677 7	0.681 7	0.952 9	0.991 1	1.000 0
80	3	0.506 9	0.613 8	0.617 7	0.651 8	0.656 7	0.948 9	0.989 7	1.000 0
70	3	0.517 3	0.621 0	0.625 2	0.658 8	0.663 4	0.950 0	0.990 0	1.000 0
平均相对保留值		0.526 3	0.627 8	0.631 7	0.664 9	0.669 3	0.950 9	0.990 3	1.000 0
RSD/%		3.312 8	2.010 0	1.976 3	1.768 5	1.690 1	0.190 5	0.060 5	—

结果 ,稳定可靠 ,专属性、重复性和耐用性均良好。

试验同时表明 ,只采用相对于基峰的相对保留值表征指纹谱时 ,离基峰越远的组份峰基相对保留值波动的程度也越大

预期 ,利用分布于指纹谱不同区域的多个参比

指标同时表征指纹特征时 ,可以在色谱条件变动幅度不大的情况下仍获得具有良好可比性的指纹谱 ,有利于指纹谱测定的标准化和结果的数字化 ,是利用指纹谱标准进行中药材的真伪鉴别和质量控制的有效途径。

表 9 HP-Innowax 柱上姜黄挥发油 GC 谱 8 主峰保留指数数据
Table 9 Retention indices of eight main peaks in GC chromatograms
of essential oil in *C. longa* obtained with HP-Innowax

柱前压 /kPa	升温速率 /(°C·min ⁻¹)	保留指数							
		1	2	3	4	5	6	7	8
80	4	1 585	1 723	1 729	1 776	1 782	2 193	2 257	2 272
70	4	1 590	1 725	1 731	1 778	1 784	2 197	2 261	2 277
80	3	1 572	1 716	1 721	1 769	1 776	2 185	2 247	2 263
70	3	1 577	1 719	1 724	1 772	1 778	2 188	2 250	2 266
平均相对保留值		1 581	1 721	1 726	1 774	1 780	2 191	2 254	2 270
RSD /%		0. 51	0. 23	0. 26	0. 23	0. 21	0. 24	0. 28	0. 28

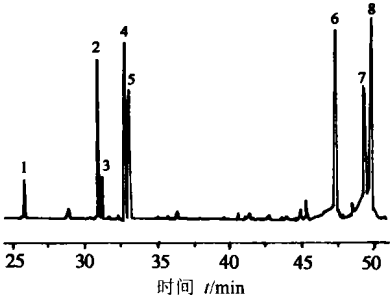


图 2 姜黄挥发油 HP-Innowax 柱 GC 程序升温测定图谱
Fig. 2 GC chromatogram of essential oil in *C. longa* obtained with HP-Innowax

References

[1] Regulations for the Establishment of the Fingerprint Spectra Standard of the TCM Injections (Draft) (中药注射剂指纹图谱研究的技术要求(暂行)) [S]. 2000.

[2] Hong X K, Wang Z H, Guo J X, et al. The fingerprint spectrum analysis of GC relative retention values for essential oil of 19 species of *Bupleurum* Genus [J]. *Acta Pharm Sin* (药学报), 1988, 23(11): 839-845.

[3] Kovats E. Gas chromatographic characterization of organic compounds I. Retention indexes of aliphatic halides, alcohols, aldehydes and ketones [J]. *Helv Chim Acta*, 1958, 41: 1915.

[4] Van Den Dool H, Kratz P D. A generalization of the retention index system including linear temperature programmed gas-liquid partition chromatography [J]. *J Chromatogr*, 1963, 11: 463.

不同基质比对青辛速释贴质量的影响

郑国¹, 罗光亮², 彭荣珍¹

(1. 暨南大学医学院第六附属医院 江门市五邑中医院, 广东 江门 529031; 2. 深圳市福田区中医院, 广东 深圳 518034)

摘要: 目的 选择以明胶、西黄蓍胶、甘油、聚丙烯酸钠和青黛制备青辛速释贴的最佳基质配比。方法 应用正交试验法, 分别以粘度、软硬度、清凉感和刺痛感为衡量指标, 综合评定不同基质配比下青辛速释贴的质量。结果 青辛速释贴的最佳基质配比为明胶: 西黄蓍胶: 甘油: 聚丙烯酸钠: 青黛 (8. 0: 3. 5: 20: 1. 3: 3. 0)。结论 采用青辛速释贴的最佳基质配比可制备质量较佳的青辛速释贴。

关键词: 青辛速释贴; 基质; 正交试验

中图分类号: R283. 6 文献标识码: B 文章编号: 0253- 2670(2003)09- 0797- 03

Effect of different proportion of matrix on quality of Qingxin Sushi Tie

ZHENG Guo-shen¹, LUO Guang-liang², PENG Rong-zhen¹

(1. Sixth Affiliated Hospital, Wuyi Hospital of TCM, Medical College of Jinan University, Jiangmen 529031, China; 2. Futian Hospital of TCM in Shenzhen, Shenzhen 518034, China)

Abstract Object To select the optimum proportion of matrix for the preparation process of Qingxin Sushi Tie (QST) by gelatia, gum tragacanth, glycerol, sodium acylate and Qingdai. Methods The process was studied by orthogonal test with viscosity, soft and hard measurement algeficient sentation, twinge sentation as detective marker. The quality of QST was comprehensively compared by the different proportion of matrix. Results The optimum proportion of matrix in QST was gelatia-gum tyagacanth-

收稿日期: 2002-11-01
基金项目: 广东省中医药管理局立项课题 (099628)
作者简介: 郑国 (1964-), 广东江门人, 副主任药师, 主要从事中成药的生产管理和开发研究, 在省级以上的学术期刊发表论文 23 篇。
Tel (0750) 3528288-3136