• 研究论文 •

莪术药材的闪蒸气相色谱测定及其模式识别分析研究

刘会君^a 陈 爽^b 王 鹏^a 陆 璐^a
潘再法^a 王丽丽^{*,a}

(^a 浙江工业大学化学工程与材料学院 杭州 310014)

(^b 浙江省食品药品检验所 杭州 310004)

摘要 建立了莪术药材的闪蒸-气相色谱法(FE-GC), 采用 FE-GC 测定了 3 个产地的 9 个莪术样品. 0.4 mg 的粉末样品, 在 200 °C 下闪蒸, 经色谱分离, 基于闪蒸色谱图上分离鉴定到的 35 个共有峰的相对强度, 结合化学模式识别即主成分分析和系统聚类分析法对莪术样品进行了鉴别分析. 3 个产地的莪术样品可以很好地得到区别. 本法快速、简便、准确, 不失为药材质量控制的良好方法.

关键词 莪术; 闪蒸; 气相色谱法; 系统聚类分析; 主成分分析

Flash Evaporation-Gas Chromatography Determination with Pattern Recognition Analysis for *Curcuma zedoaria* Rosc.

Liu, Huijun^a Chen, Shuang^b Wang, Peng^a Lu, Lu^a
Pan, Zaifa^a Wang, Lili^{*,a}

(^a College of Chemical Engineering and Materials Science, Zhejiang University of Technology, Hangzhou 310014)

(^b Zhejiang Institute for Food and Drug Control, Hangzhou 310004)

Abstract A method of flash evaporation followed by gas chromatography (FE-GC) was developed for determination of volatile components of *Curcuma zedoaria* Rosc. The *Curcuma zedoaria* Rosc. samples from 3 different growing places were analyzed on the basis of flash evaporation-gas chromatography (FE-GC). An amount 0.4 mg of sample powder was evaporated in a micro-furnace pyrolyzer at 200 °C, and the products formed were introduced into a gas chromatograph equipped with a flame ionization detector or mass spectrometer. Based on the relative peak areas of 35 peaks in the chromatogram obtained by FE-GC, 9 samples of *Curcuma zedoaria* Rosc. from 3 different origins were clearly classified into 3 categories by two pattern recognition analysis, i.e. principle component analysis and hierarchical cluster analysis. The results proved that it is a simple, rapid and accurate method suitable for quality control of the traditional Chinese medicines.

Keywords *Curcuma zedoaria* Rosc.; flash evaporation; gas chromatography; principal component analysis; hierarchical cluster analysis

莪术为姜科姜黄属植物蓬莪术、广西莪术和温郁金 的干燥根茎, 有破瘀行气、消积止痛之功效^[1]. 莪术植株

* E-mail: lili_wang@zjut.edu.cn; Tel.: 0571-88320797

Received June 16, 2011; revised September 9, 2011; accepted September 14, 2011.

Project was supported by the Key Science and Technology Innovation Team of Zhejiang Province (No. 2011R09002-11) and the Opening Foundation of Zhejiang Provincial Top Key Discipline (No. 200908).

浙江省重点科技创新团队(No. 2011R09002-11)和浙江省重中之重开放基金(No. 200908)资助项目.

在采集后, 往往就地进行加工, 加工后药材外形相似, 形态鉴别比较困难. 据文献报道^[2-10], 不同品种、不同产地的莪术, 其挥发油中化学成分有较大差别. 为确保莪术药材的质量, 有必要对莪术中药材进行产地鉴别, 了解不同产地莪术挥发性成分的差别, 为控制莪术挥发油的质量提供理论依据.

闪蒸-气相色谱(FE-GC)具有无需溶剂萃取、样品用量少、方法快速等特点, 已被应用在食品^[11], 药品^[12,13]和中草药^[14-17]分析中. 本课题组已采用 FE-GC 测定了莪术样品中挥发性组分^[17], 通过与水蒸气蒸馏及顶空固相微萃取-GC/MS测定法的比较表明 FE-GC 法适合莪术样品中挥发性化合物的测定. 本工作采用纵型微型炉裂解器结合气相色谱对 3 个产地的 9 个莪术样品进行了闪蒸气相色谱测定, 并结合化学模式识别分析即主成分分析和系统聚类分析对不同产地的莪术中药材进行了鉴别研究.

1 实验部分

1.1 材料与仪器

莪术样品至少 50 g, 见表 1, 经浙江省人民医院郑佳冰主任医师鉴定为姜科姜黄属的干燥根茎. 使用前用高速中药粉碎机磨成粉, 过 120 μm 筛, 保存于密闭容器中.

表 1 莪术样品

Table 1 *Curcuma zedoaria* Rosc. samples

名称	编号	采购地
温莪术	WE-1	浙江瑞安
	WE-2	浙江瑞安
	WE-3	杭州回春堂
广西莪术	GE-1	杭州华东大药房
	GE-2	杭州张同泰
	GE-3	杭州同仁堂
蓬莪术	PE-1	浙江乐清
	PE-2	浙江乐清
	PE-3	浙江瑞安

美国 Varian CP-3800 气相色谱仪, 配置氢火焰离子化检测器(FID); 日本 Frontier labs PY-2020 id 双击式纵型微型炉裂解器; 美国 Thermo Finnigan Trace DSQ 气相色谱-质谱(GC-MS)联用仪; 德国 Sartorius BP211D 分析天平. 美国 SPSS 公司 SPSS 软件(Windows 11.5).

1.2 实验过程

将约 0.4 mg 的粉末样品装入样品杯, 固定于进样杆后, 装入安装在 GC 进样口上方的裂解器, 此时样品处

于室温. 待裂解器温度达到 200 $^{\circ}\text{C}$ 后, 按下进样按钮, 样品杯掉入炉心, 挥发性成分瞬间气化, 由载气带入 GC 进样口, 进行 GC-MS 分析.

GC 条件: 毛细管色谱柱 Ultra ALLOY-5, 规格为 30 m $\times$ 0.25 mm $\times$ 0.25 μm (5%苯基聚二甲基硅氧烷), Frontier Labs, 日本; 程序升温条件: 初温 50 $^{\circ}\text{C}$, 以 5 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 升到 250 $^{\circ}\text{C}$; 气化室和检测器温度均为 250 $^{\circ}\text{C}$; 载气为 N_2 , 柱流量 1 mL/min, 分流比 30:1.

样品成分的定性采用 FE-GC/MS. MS 条件: 电子轰击(EI)离子源, 离子源温度 250 $^{\circ}\text{C}$, 电离能量 70 eV, 离子扫描范围 m/z 50~500, 质谱标准库为 Nist 02 库.

2 结果与讨论

2.1 莪术的闪蒸-气相色谱测定

在 1.2 节条件下采用 FE-GC/MS 测定温莪术样品, 图 1 为温莪术样品的总离子流图. 经质谱数据库检索和人工谱图解析对其化学成分进行定性, 共鉴定出 40 个化合物, 约占总峰数的 80%. 在 15 min 以前, 出峰均较少, 峰高也较低; 主要挥发性成分如 β -榄香烯、莪术烯、环异长叶烯、 β -榄香烯酮、吉马酮、莪术二酮、新莪术二酮等在 18~27 min 间出峰. 对 FE-GC 谱图的重现性进行了考察, 除保留时间为 13.8, 18.5, 20.1 和 24.8 min 的四个峰因面积百分含量较小($<1\%$), 其峰面积百分含量的相对标准偏差 RSD ($n=5$)为 7.1%~9.0%. 其余 36 个挥发性成分的 RSD ($n=5$)为 1.3%~6.5%, 表明重现性较好.

图 1 温莪术样品的 TIC 图

Figure 1 TIC of *Curcuma wenyujin*. Sample

2.2 不同产地莪术闪蒸-气相色谱分析

在 1.2 节的条件下采用 FE-GC 和 FE-GC/MS 测定了 3 个产地的 9 个莪术样品, 其 GC 色谱图见图 2, 1~3 为温莪术, 4~6 为广西莪术, 7~9 为蓬莪术. 共鉴定出 45 个峰, 其中共有峰为 35 个. 35 个共有峰的定性及以 35 个共有峰峰面积为 100%计得到的各峰的相对百分含量见表 2. 莪术中萜烯类物质最多, 占共有峰的 55.3%~73.6%, 其余依次为酮类物质占共有峰为 18.9%~

表2 9个莪术样品共有峰的鉴定及其相对百分含量

Table 2 Assignment and the relative peak areas of the common components for 9 *Curcuma zedoaria* Rosc. samples

峰号	保留时间/min	化合物	相对百分含量/%								
			WE-1	WE-2	WE-3	GE-1	GE-2	GE-3	PE-1	PE-2	PE-3
醚											
4	9.07	Eucalyptol(桉油精)	0.42	0.46	0.40	0.91	0.73	1.00	0.65	0.31	0.31
26	23.38	Caryophyllene oxide (石竹烯氧化物)	0.59	0.54	0.56	0.96	1.30	0.92	0.63	0.62	0.52
		小计	1.01	1.00	0.96	1.87	2.03	1.92	1.28	0.93	0.83
酯											
10	15.97	Isobornylacetate (乙酸异龙脑酯)	0.02	0.02	0.02	0.01	0.02	0.07	0.07	0.06	0.11
		小计	0.02	0.02	0.02	0.01	0.02	0.07	0.07	0.06	0.11
醇											
6	12.47	Isoborneol(异龙脑)	0.25	0.34	0.29	0.25	0.34	0.37	0.54	0.57	0.18
7	12.74	Borneol(龙脑)	0.28	0.38	0.34	0.27	0.36	0.32	0.30	0.29	0.16
8	13.30	Terpinene-4-ol (萜品烯-4-醇)	0.04	0.05	0.07	0.09	0.06	0.07	0.06	0.04	0.05
29	24.07	Curcuml(莪术醇)	4.06	4.02	3.45	12.20	9.03	15.40	0.67	4.19	2.09
30	24.78	β -Eudesmol (β -桉叶油醇)	1.39	1.45	0.89	0.91	1.06	0.95	0.79	0.30	1.01
31	24.87	Eudesm-7[11]-en-4-ol (桉叶-7[11]-烯-4-醇)	1.50	1.60	1.23	2.25	1.61	2.18	0.33	0.04	0.27
		小计	7.52	7.84	6.27	15.97	12.46	19.29	2.69	5.43	3.76
酮											
5	12.11	Camphor(樟脑)	0.35	0.44	0.24	0.37	0.55	0.60	1.06	0.86	0.32
32	25.57	β -Elemenone (β -榄香烯酮)	0.49	0.44	0.28	0.33	2.44	0.39	2.58	2.10	1.61
33	25.74	Germacrone(吉马酮)	10.36	9.44	9.21	21.12	16.26	20.82	5.90	7.05	8.30
34	26.20	Curdione(莪术二酮)	8.99	9.32	6.94	0.14	3.02	0.14	17.78	12.63	12.13
35	26.95	NeoCurdione(新莪术二酮)	2.45	2.50	2.19	0.52	1.25	0.97	1.34	1.16	1.13
		小计	22.64	22.14	18.86	22.48	23.52	22.92	28.66	23.8	23.49
萜烯											
1	6.68	α -Pinene (α -蒎烯)	0.03	0.02	0.02	0.05	0.05	0.07	0.30	0.05	0.14
2	7.03	Camphene(莰烯)	0.02	0.03	0.02	0.08	0.05	0.11	0.19	0.03	0.10
3	7.70	β -Pinene (β -蒎烯)	0.03	0.03	0.03	0.05	0.08	0.02	0.92	0.17	0.42
9	13.80	α -Terpineol (α -萜品烯)	0.24	0.30	0.28	0.17	0.15	0.13	0.06	0.05	0.05
11	17.31	δ -Elemene (δ -榄香烯)	0.26	0.31	0.38	0.21	0.18	0.17	0.20	0.22	0.08
12	18.51	Eudesma-4-(1,4),7(11)diene [桉叶-4-(1,4),7(11)二烯]	0.04	0.05	0.06	0.01	0.01	0.17	0.05	0.4	0.03
13	18.69	β -Elemene (β -榄香烯)	1.28	1.73	1.79	0.72	1.12	0.40	3.10	2.51	1.53
14	19.40	Caryophyllene(石竹烯)	0.58	0.83	0.99	0.44	0.36	0.40	0.29	0.55	0.31
15	19.71	τ -Elemene (τ -榄香烯)	4.11	4.80	5.64	0.30	0.23	0.21	0.23	0.47	0.32
16	20.10	α -Elemene (α -榄香烯)	0.06	0.08	0.11	0.05	0.06	1.42	0.04	0.08	0.02
17	20.23	α -Caryophyllene (α -石竹烯)	3.16	4.36	5.13	3.41	2.17	1.68	0.74	1.69	0.84
18	20.75	δ -seinene (δ -芹子烯)	0.40	0.52	0.58	0.78	0.59	0.79	0.28	0.25	0.06
19	20.91	Ar-curcumene(芳姜黄烯)	1.34	1.61	1.74	0.36	2.95	0.71	17.61	15.67	14.22
20	21.03	β -Seinene (β -芹子烯)	1.06	1.34	1.50	1.34	0.79	1.22	1.60	1.27	0.72
21	21.24	Curzerene(莪术烯)	25.11	24.27	25.30	10.41	9.22	7.40	4.31	6.09	10.72
22	21.57	γ -Cadinene (γ -萜澄茄烯)	0.61	0.66	0.72	0.22	1.33	0.20	3.83	3.41	3.15
23	21.87	τ -Cadinene (τ -萜澄茄烯)	1.42	1.66	1.53	0.85	2.41	1.23	3.21	8.85	5.86
24	22.34	τ -Seinene (τ -芹子烯)	0.63	0.66	0.84	0.55	0.35	0.34	0.17	0.21	0.19
25	22.68	τ -Gurjunene (τ -古芸烯)	2.06	2.39	2.80	0.10	0.05	0.04	0.19	0.19	0.07
27	23.54	β -Guaiene (β -愈创木烯)	0.27	0.24	0.19	0.090	0.56	0.03	0.54	0.66	0.36
28	23.71	Cycloisolongifolene (环异长 叶烯)	25.86	22.91	23.99	35.10	38.80	39.02	24.62	27.31	32.65
		小计	68.57	68.80	73.64	55.29	61.51	55.76	62.48	70.13	71.84
		总计	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00

图2 9个莪术样品的FE-GC图

Figure 2 Chromatograms of 9 *Curcuma zedoaria* Rosc. samples obtained by FE-GC

28.7%, 醇类物质占共有峰的 2.7%~19.3%, 醚类物质占共有峰的 0.83%~2.03%, 酯类物质占共有峰的 0.01%~0.11%。其中醇类的小计值相差较大。广西莪术中的萜烯类较其它两个产地少, 而醇类又较其它两个产地多, 其它三类物质各地差别不大。

由图2可知, 将各个色谱峰划分为3个区域, A区域9个莪术样品中的共有色谱峰强度比较相似; B区域有14个色谱峰, 峰强度较A区域强, 从色谱图上可知, 不同产地的莪术在此区域的差别较大, 可作为识别不同产地的特征区; C区域共有色谱峰有10个, 虽然在峰数上没有其它两个区域多, 但是在峰强度上相对较强, 是主要峰区。由图2可以区别不同产地的莪术, 但不够直观。下面通过主成分分析和系统聚类分析直观地鉴别莪术样品。

2.3 指纹图谱的主成分分析和聚类分析

将表2中的9种莪术样品的35个共有组分相对百分含量输入SPSS统计软件, 采用主成分分析法对其进行处理, 共提取得到三个主成分, 第一主成分得分为43.0%, 第二主成分得分为28.0%, 第三主成分得分为10.3%, 由此作出三维主成分分析散点图(图3)。

由图3可知, 三个产地基本上分为三组, 而蓬莪术比较分散, 不能明显归类。为了更好区别不同产地的莪术, 采用系统聚类分析方法来区别不同产地的莪术样品。

调用SPSS11.5软件包中的聚类分析程序对表2中的数据进行聚类分组。在方法上采用夹角余弦测量, 每两个样本间用类间平均连接法(Between-groups linkage)连接, 可输出系统聚类分析图。由相似矩阵知, 9个莪术

图3 莪术样品主成分投影图

Figure 3 Principal component projection of *Curcuma zedoaria* Rosc. samples

样品, 温莪术 WE-1~WE-3 的相关系数达 0.994 以上, 广西莪术 GE-1~GE-3 的相关系数达 0.978 以上, 蓬莪术 PE-1~PE-3 的相关系数达 0.938 以上, 说明各地的莪术之间相似性较高。

图4为样品的系统聚类树系图, 直观地表现了样品逐步合并的过程。横坐标为临界值即为类间的距离, 纵坐标为样品号。临界值越小, 表明谱图越相似。由图4可知, 当临界值约介于5至23时, 三个产地的温莪术 WE-1~WE-3, 广西莪术 GE-1~GE-3, 蓬莪术 PE-1~PE-3 分别成类, 反映这三类莪术的不同产地来源。当临界值约为23时, 温莪术 WE-1~WE-3 和蓬莪术 PE-1~PE-3 聚为一类。临界值约介于23至25时, 温莪术 WE-1~WE-3 和蓬莪术 PE-1~PE-3 与广西莪术 GE-1~GE-3 分为两大类。结果表明, 系统聚类分析既能综合地反映莪术药材同产地间的相似关系又能全面地反映不同产地之间的差异。

图4 莪术样品系统聚类树系图

Figure 4 Hierarchical cluster analysis of *Curcuma zedoaria* Rosc. samples

3 结论

建立了莪术药材的闪蒸-气相色谱法(FE-GC)。采用该法测定了3个产地的9个莪术样品。0.4 mg 的粉末样

品, 在 200 °C 下闪蒸, 经色谱分离, 基于闪蒸色谱图上分离鉴定到的 35 个共有峰的相对强度, 结合化学模式识别对闪蒸色谱图进行了鉴别分析. 3 个产地的莪术样品得到很好的区别, 为莪术的鉴别提供参考方法. 本法前处理简单无须使用有机溶剂、样品用量少、快速准确, 适用于中药材的质量控制.

References

- 1 State Pharmacopoeia Committee of the People's Republic of China, *Pharmacopoeia of the People's Republic of China*, 2000 ed., Chemical Industry Press, Beijing, **2000**, p. 230 (in Chinese).
(中华人民共和国国家药典委员会, 中华人民共和国药典, 2000 版, 化学工业出版社, 北京, **2000**, p. 230.)
- 2 Yang, F. Q.; Li, S. P.; Chen, Y.; Liu, Q. Q.; Wang, Y. T.; Dong, T. X.; Zhan, H. Q. *Chin. J. Pharma. Anal.* **2005**, *25*, 827 (in Chinese).
(杨丰庆, 李绍平, 陈莹, 刘倩青, 王一涛, 董婷霞, 詹华强, 药物分析杂志, **2005**, *25*, 827.)
- 3 Zhou, X.; Liang, G. Y.; Shen, W. Y.; Chai, L. *West China J. Pharm. Sci.* **2002**, *17*, 2013 (in Chinese).
(周欣, 梁光义, 沈万雁, 柴立, 华西药学杂志, **2002**, *17*, 2013.)
- 4 Li, A. Q.; Yao, C. S.; Hu, X. J.; Chen, J. M. *J. Instr. Anal.* **2002**, *21*(6), 67 (in Chinese).
(李爱群, 姚崇舜, 胡学军, 陈济民, 分析测试学报, **2002**, *21*(6), 67.)
- 5 Li, X.; Sun, Y. T.; Zhang, Z. Q. *Chin. Traditional Patent Med.* **2010**, *32*(2), 176 (in Chinese).
(李想, 孙艳涛, 张振秋, 中成药, **2010**, *32*(2), 176.)
- 6 Li, X.; Sun, Y. T.; Zhang, Z. Q.; Hu, B.; Liu, S. C. *Chin. J. Pharm. Anal.* **2009**, *29*(11), 1832 (in Chinese).
(李想, 孙艳涛, 张振秋, 胡北, 刘殊畅, 药物分析杂志, **2009**, *29*(11), 1832.)
- 7 Liu, X.; Cheng, L.; Lü, G. J.; Zhao, S.; Wang, S. H.; Ma, X. *J. Chin. Traditional Patent Med.* **2010**, *32*(3), 426 (in Chinese).
(刘星, 程岚, 吕国军, 赵珊, 汪圣华, 马小军, 中成药, **2010**, *32*(3), 426.)
- 8 Sun, Y. T.; Zhang, Z. Q.; Li, X.; Liu, S. C. *Lishizhen Med. Mater. Media Res.* **2010**, *21*(6), 1525 (in Chinese).
(孙艳涛, 张振秋, 李想, 刘殊畅, 时珍国医国药, **2010**, *21*(6), 1525.)
- 9 Lobo, R.; Prabhu, K. S.; Shirwaikar, A.; Shirwaikar, A. *J. Pharm. Pharmacol.* **2009**, *61*(1), 13.
- 10 Qin, N. Y.; Yang, F. Q.; Wang, Y. T.; Li, S. P. *J. Pharm. Biomed. Anal.* **2007**, *43*(2), 486.
- 11 Zhao, X. H.; Li, Z. L. *J. Chin. Med. Mater.* **1990**, *13*, 33 (in Chinese).
(赵兴红, 李兆琳, 中药材, **1990**, *13*, 33.)
- 12 Gao, H.; Sha, Z. F.; Sun, W. J. *Chin. J. Pharma. Anal.* **1989**, *9*(6), 323 (in Chinese).
(高海, 沙振方, 孙文基, 药物分析杂志, **1989**, *9*(6), 323.)
- 13 Yu, F. Y. *Chin. Traditional Patent Med.* **1993**, *15*(9), 17 (in Chinese).
(禹凤英, 中成药, **1993**, *15*(9), 17.)
- 14 Chen, Y. Z.; Li, Z. H.; Xue, D. Y.; Han, H.; Yang, Y. C. *Chem. J. Chin. Univ.* **1985**, *6*(12), 1075 (in Chinese).
(陈耀祖, 李兆华, 薛敦渊, 韩辉, 杨玉成, 高等学校化学学报, **1985**, *6*(12), 1075.)
- 15 Cao, J.; Qi, M. L.; Fu, R. N.; Fang, L. H. *The Fifteenth National Chromatographic Academic Report Memoir*, Vol. 1, **2005**, p. 139 (in Chinese).
(曹洁, 齐美玲, 傅若农, 方良华, 第十五次全国色谱学术报告会文集(上册), **2005**, p. 139.)
- 16 Liang, M. M.; Qi, M. L.; Zhang, C. B.; Fu, R. N. *J. Chromatogr., A* **2005**, *531*(1), 97.
- 17 Wang, L. L.; Chen, S.; Lu, L.; Pan, Z. F.; Zhang, J. M.; Zhou, Y. *Chem. Ind. Forest Products* **2010**, *30*(1), 17 (in Chinese).
(王丽丽, 陈爽, 陆璐, 潘再法, 张俊梅, 周彦, 林产化学与工业, **2010**, *30*(1), 17.)

(A1105164 Zhao, C.)