

高效液相色谱法测定生姜中 6-姜酚的含量

马雯雯,何前松,张永萍,刘文,冯泳
(贵阳中医学院,贵阳 550002)

摘要:目的:建立用高效液相色谱法测定生姜中 6-姜酚的含量的方法。方法:色谱柱为迪马 diamonsil C18 () (5 μ m, 250 mm \times 4.6 mm),以甲醇-水=65:35 为流动相,进样量为 10 μ l,在柱温为 30 $^{\circ}$ C,流速为 0.8 ml/min。结果:6-姜酚的含量在进样量为 0.322~3.22 μ g 范围内与峰面积呈良好线性关系 ($r=0.9999, n=6$),平均加样回收率为 102.37%,98.84%,97.19%,RSD 分别为 1.40%,2.73%,0.87%。结论:方法操作简单、可靠,可以作为生姜中 6-姜酚的含量测定。

关键词: 高效液相色谱法;测定;6-姜酚;含量

中图分类号: R284.1 **文献标识码:** B **文章编号:** 1005-5320(2009)06-0027-02

生姜是一味常用中药,中医主要用于解表散寒、温中止呕和化痰止咳,亦可作为食用。姜酚是生姜中的辣味物质,是生姜主要的活性成分,具有止呕、止晕、强心、降血脂、抗氧化、抗衰老、抗疲劳、抗肿瘤、抑制前列腺素合成、防腐杀菌、驱虫、护肤美容等多种功能^[1,2],它包括 6-姜酚、8-姜酚、10-姜酚、12-姜酚等 10 余种,其中 6-姜酚含量最高,约占 75%^[3]。大量研究表明,6-姜辣素是生姜中主要的止呕成分,其中 6-姜酚的含量最高。闫东海^[4]研究在生姜精油中 6-姜酚的含量为 14.70%,16.06%,最高者达到 19.24%,王维皓^[5]等研究四川犍为产的生姜中 6-姜酚的含量最高,说明了道地药材的重要性。也有人用 6-姜酚酞为内标测定 6-姜酚的含量,以干姜中 6-姜酚的含量为高,达 3.04 mg/g^[6]。本实验就高效液相色谱法测定 6-姜酚含量作一研究报道。

1 仪器与试剂

1.1 仪器 岛津 LC-20A 型液相色谱仪,SPD-20A 型紫外-可见检测器;手动进样;HT-20 型柱温箱;

1.2 试剂 6-姜酚标准品购于天津马克生物技术有限公司,经面积法一测定纯度为 98.75%,甲醇为色谱纯。生姜均购于贵阳市蔬菜市场,经贵阳中医学院生药教研室王世清老师鉴定为姜科植物姜 *Zingiber officinale* Rosc. 的新鲜根茎。

2 方法与结果

2.1 色谱条件 色谱柱:迪马 diamonsil C18 ()

(5 μ m, 250 mm \times 4.6 mm);流动相:甲醇-水=65:35;检测波长:208 nm;柱温:30 $^{\circ}$ C;理论踏板数:7000;流速:0.8 ml/min;进样量:10 μ l。

2.2 对照品溶液、供试品溶液的制备

2.2.1 对照品溶液 精密称取 6-姜酚标准品 0.322 mg 于 10 ml 容量瓶中,用甲醇定容至刻度,摇匀,即得。

2.2.2 供试品溶液 取生姜末 0.5 g,加入 80%的甲醇溶液 50 ml,在 67 $^{\circ}$ C 下回流 1.5 h,补重,过滤后弃去初滤液,取续滤液,即得样品溶液。进样前用 0.45 μ m 的微孔滤膜过滤。

2.3 线性范围的考察 取同一浓度的 6-姜酚标准品溶液(0.322 mg/ml),分别吸取 0.1、0.25、0.5、0.75 ml 于 1 ml 容量瓶中,用甲醇定容至刻度,摇匀,即得不同浓度的标准品溶液,每一浓度分别进样 10 μ l,以峰面积(y)为纵坐标,以进样量(x)为横坐标做线性回归,得回归方程为 $y=60000x-22704$ ($r=0.9999, n=5$),表明 6-姜酚的含量在进样量为 0.322~3.22 μ g 范围内与峰面积呈良好线性关系。

2.4 精密度实验 吸取上述对照品溶液 10 μ l,重复进样 6 次,记录峰面积,计算 RSD 值为 0.68%,表明精密度良好。

2.5 重复性实验 取生姜末,同法制备 6 份供试品溶液,分别测定峰面积并计算生姜中 6-姜酚的含量,测得 RSD 值为 2.63%。

2.6 稳定性试验 取同一份供试品溶液,分别在 0、2、4、8、12、24 h 进样测定峰面积,计算 RSD 值为 1.05%,证明样品含量在 24 h 内稳定。

2.7 加样回收率实验 制备供试品溶液 9 份,分为 3 组,以低、中、高三个浓度加入标准品溶液,依法测定,结果如表 1 所示。

收稿日期:2009-06-10

基金项目:贵州省中药现代化科技产业研究开发专项(黔科合社字 2008-5025 号)

作者简介:马雯雯(1986-),女,2007 级研究生,研究方向:中药新药的研究与开发。通讯作者:刘文。

表 1 加样回收率试验结果

取样量(g)	样品中 6-姜酚的含量(mg)	加入标品的量(mg)	测定结果(mg)	回收率	平均回收率	RSD
0.2599	1.095039269	0.966	2.090203	103.0 %		
0.2584	1.088719304	0.966	2.087329	103.4 %	102.4 %	1.40 %
0.2576	1.085348656	0.966	2.058444	100.7 %		
0.2486	1.047428866	1.0465	2.059935	96.8 %		
0.2531	1.066388761	1.0465	2.090771	97.9 %	98.8 %	2.73 %
0.2591	1.091668621	1.0465	2.157847	101.9 %		
0.2430	1.02383433	1.2075	2.195537	97.0 %		
0.2482	1.045743542	1.2075	2.210219	96.4 %	97.2 %	0.87 %
0.2499	1.052906169	1.2075	2.237444	98.1 %		

2.9 样品测定 在贵阳市蔬菜市场不同时间不同地点购买 6 批生姜。按照供试品溶液制备方法,配置 6 个不同批次生姜的供试品溶液,按 2.1 所示色谱条件测试,记录峰面积,计算 6-姜酚的含量见表 2。

表 2 样品测定结果

批号	峰面积	含量(mg/g)
090715(01)	295542	2.6209
090715(02)	263703	2.3577
090715(03)	308375	2.7485
090715(04)	372473	3.304
090715(05)	374865	3.3514
090715(06)	386083	3.4521

3 讨论

3.1 提取方法的选择 本实验比较超声提取法和回流提取法,数据显示回流提取法时 6-姜酚的含量约为超声提取法的两倍。因此采用甲醇回流提取法。

3.2 流动相的选择 本实验中通过比较乙腈水 = 45:55,甲醇水 = 65:35 两个流动相,两者均出峰时间适当,分离度好,但出于经济的考虑,乙腈价格昂贵,所以不采用乙腈水 = 45:55(1.0 ml/min),而采

用甲醇水 = 65:35(0.8 ml/min)作为流动相。

3.3 生姜质量差异及所含水分 实验中的生姜均为市售,产地和批次有很大差异,通过试验中的数据显示,不同产地和批次以及含水量对生姜中 6-姜酚的含量有极大影响。对于这些应该进行进一步的研究。

参考文献:

- [1] 黄雪松,宴日安,吴建中. 生姜的生物活性述评[J]. 暨南大学学报(自然科学版),2005,26(3):434-439.
- [2] 黄雪松,张宁. 结晶姜酚的制取与鉴定[J]. 食品与发酵工业,2005,31(10):48-50.
- [3] Chen Chuchu, Rosen R T, Ho Chitang. Chromatographic analyses of gingerol compounds in ginger (*Zingiber officinale* roscoe) extracted by liquid carbon dioxide[J]. Journal of Chromatography A,1986,360:163-173.
- [4] 闫东海. HPLC 测定生姜精油中 6-姜酚含量[J]. 药物分析杂志,2007,27(5):733-734.
- [5] 王维皓,王智民,徐丽珍,等. HPLC 测定生姜中有效成分 6-姜辣素的含量[J]. 中国中药杂志,2002,27(5):348-349.
- [6] 曲翔,卢晓旭,黄雪松,等. 以 6-姜酚肟为内标测定生姜及其制品中 6-姜酚的含量[J]. 分析与检测,2007,33(6):123-125.

本刊欢迎 E-mail 投稿

(本刊收到投稿会即刻邮件回复“已收到”字样,如作者所发邮件投稿或修改稿未见回复,说明邮件发送并未成功,请重发或电话联系本刊编辑部确认。)

(本刊邮箱:wylk@chinajournal.net.cn)