

以 6-姜酚肟为内标测定生姜及其制品中 6-姜酚的含量*

曲翔,卢晓旭,黄雪松

(暨南大学食品科学与工程系,广东广州,510632)

摘要 建立了一种以 6-姜酚肟代替 6-姜酚为标样,采用高效液相色谱法,精确测定生姜及其制品中 6-姜酚的方法。采用的色谱柱为 Diamonsil C₁₈ 柱,流动相为乙腈-水系统梯度洗脱,流速 1 mL/min,检测波长 280 nm。结果表明:6-姜酚在 10.55~2 700 $\mu\text{g/mL}$ 、6-姜酚肟在 10.43~2 670 $\mu\text{g/mL}$ 时峰面积与浓度呈良好的线性关系,相关系数分别为 0.998 3 和 0.999 8。6-姜酚的检测限为 2.12 $\mu\text{g/mL}$,6-姜酚肟的检测限为 2.09 $\mu\text{g/mL}$ 。6-姜酚对 6-姜酚肟的相对校正因子为 1.285,相对保留时间为 1.728。6-姜酚肟的加标回收率为 96.3%~102.2%,相对标准偏差 $\leq 2.4\%$ 。用内标法和外标法测得的结果无显著差异,测得鲜姜、干姜和姜酒中 6-姜酚含量分别为 1.86、3.04、0.115 mg/g。用 6-姜酚肟做内标测定 6-姜酚的方法准确可靠,可用于生姜及其制品中 6-姜酚的测定。

关键词 6-姜酚,6-姜酚肟,生姜

姜酚是生姜中的辣味物质,也是生姜主要的活性成分,具有强心、降血脂、防治心血管疾病、抗氧化、抗衰老、抗疲劳、抗肿瘤、止呕、止晕、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-、8-、10-、12-姜酚等 10 余种,其中 6-姜酚含量最高,约占 75%^[3]。生姜及其制品中的姜酚容易受酸、碱、热等因素影响而破坏,并且含量少,因而不宜测定。目前科学研究中应用最多的姜酚测定方法是 HPLC 法^[4],但姜酚色谱峰的定性、标准工作曲线的测定都需要姜酚标样才能进行。而姜酚标样目前还难以化学合成,国外进口价格昂贵,因此在科研和生产中迫切需要一种化学性质稳定,价廉易得、能够代替 6-姜酚的标准物质用于测定姜酚。

6-姜酚肟是 6-姜酚的衍生物,可在一定条件下脱肟形成 6-姜酚进行定性^[5],而且 6-姜酚肟在常温下为结晶状态,容易保存和使用^[6]。笔者探讨了利用 6-姜酚肟做内标,采用 HPLC 法准确快速测定生姜及其制品中 6-姜酚含量的可行性,以期控制生姜及其制品质量,开发生姜保健食品或与之有关的药品提供可靠的依据。

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

日本岛津 LC-20AT 高效液相色谱仪;液相色谱分析所用甲醇、乙腈均为色谱纯;6-姜酚标样购自日

本 WAKO 公司(纯度大于 98%);6-姜酚肟标样为实验室自制(经归一化法测定其纯度 $>95\%$)。

1.2 对照品溶液的配制

1.2.1 6-姜酚标准样品溶液的配制

精确称取 6-姜酚标准品 27.0 mg,置于 10 mL 容量瓶中,加甲醇溶解并定容,摇匀,配成 2.7 mg/mL 的标准储备液。精确量取该储备液 2 mL,采用倍比稀释法分别配成 1 350、675、337.5、168.75、84.38、42.19、21.10、10.55 $\mu\text{g/mL}$ 的系列标准溶液。

1.2.2 6-姜酚肟标准样品溶液的配制

精确称取 6-姜酚肟 26.7 mg,置于 10 mL 容量瓶中,加甲醇溶解并定容,摇匀,配成 2.67 mg/mL 的标准储备液。精确量取该储备液 2 mL,采用倍比稀释法分别配成 1 335、667.5、333.75、166.88、83.44、41.72、20.86、10.43 $\mu\text{g/mL}$ 的系列标准溶液。

1.3 供试品溶液的配制

鲜姜,洗净、打浆;干姜、超市售食用腌姜,于粉碎机中打碎。各精确称取鲜姜浆、干姜粉和腌姜 1.000 g 置于 10 mL 容量瓶中,加甲醇 8 mL 超声提取 30 min,再加甲醇定容,摇匀,过 0.45 μm 微孔滤膜,得供试品溶液。精确量取姜酒 5 mL,过 0.45 μm 微孔滤膜,得供试品溶液。精确量取上述供试品溶液 1 mL,加入内标物 6-姜酚肟溶液(166.88 $\mu\text{g/mL}$) 1 mL,摇匀,过 0.45 μm 微孔滤膜,得含内标的供试品溶液。

1.4 色谱条件

色谱柱:Diamonsil(TM) 5 μm , C₁₈, (150 \times 4.6) mm。流动相:A,乙腈;B,水。梯度洗脱程序:0~8

第一作者:硕士研究生(黄雪松为通讯作者)。

* 国家自然科学基金资助项目(No. 304721116)

收稿日期:2007-03-22,改回日期:2007-05-16

min, 45% A~50A%; 8~15 min, 50% A~55% A; 15~40 min, 55% A~90% A; 40~45 min, 90% A~45% A。流速: 1 mL/min。柱温: 室温。检测波长: 280 nm。进样体积: 5 μ L。

2 结果与讨论

2.1 姜酚的纯度

取 6-姜酚标准储备液在 1.4 条件下进行 HPLC 测定, 用归一化法计算其纯度 > 95% (见图 1), 可以满足作为标准品的要求。

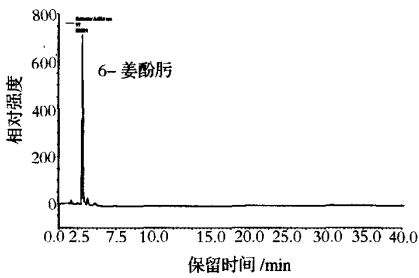


图 1 6-姜酚的高效液相色谱图

2.2 线性关系的考察

按照 1.2 项配制的标准溶液进行 HPLC 测定, 进样量均为 5 μ L。以标准溶液质量浓度 (X, μ g/mL) 为横坐标, 峰面积 (Y) 为纵坐标, 绘制标准曲线。得到 6-姜酚标准的线性回归方程: $Y = 1\,899.5X + 3\,386$, $r = 0.998\,3$; 6-姜酚标准的线性回归方程: $Y = 2\,459.7X + 7\,178.6$, $r = 0.999\,8$ 。结果表明: 其相关程度高, 能够反应 6-姜酚和 6-姜酚浓度与峰面积的关系。6-姜酚在质量浓度 10.55~2 700 μ g/mL、6-姜酚在质量浓度 10.43~2 670 μ g/mL 时峰面积

与浓度呈良好的线性关系。

2.3 检测限和精密度

分别精确量取 1.2 项中配制的 6-姜酚标准溶液 (10.55 μ g/mL) 和 6-姜酚标准溶液 (10.43 μ g/mL) 各 1 mL, 置于 5 mL 容量瓶中, 加甲醇溶解并定容, 摇匀, 进样量 5 μ L。以信噪比 S/N=5 计, 6-姜酚的检测限为 2.12 μ g/mL, 6-姜酚的检测限为 2.09 μ g/mL。将上述标准溶液重复进样 5 次, 测得峰面积的相对标准偏差 (RSD) 分别为 1.6% 和 2.2%。

2.4 姜酚回收率的测定

在供试品中加入已知量的 6-姜酚, 进行回收率测定, 测定结果如表 1。结果表明: 用 6-姜酚做内标测定鲜姜及姜制品中 6-姜酚含量时, 6-姜酚稳定, 不与其他物质反应, 符合内标的要求^[7]。

表 1 回收率试验结果

样 品	加入量/ μ g	检测量/ μ g	回收率/%
鲜 姜	16.69	16.98	101.7
干 姜	16.69	17.06	102.2
腌 姜	8.34	8.23	98.7
市售姜酒	8.34	8.19	98.2
调配姜酒	8.34	8.03	96.3

2.5 校正因子、相对保留时间的测定

分别精确量取 6-姜酚储备液 (2.7 mg/mL) 和内标物 6-姜酚储备液 (2.67 mg/mL) 各 2 mL, 摇匀, 配制成混合对照品溶液, 再按照倍比稀释逐级稀释 7 次, 进样量 5 μ L, 每个浓度测定 3 次, 峰面积取平均值。相对校正因子和相对保留时间测定结果见表 2, 6-姜酚与 6-姜酚的高效液相色谱图见图 2。

表 2 6-姜酚对 6-姜酚的相对校正因子和相对保留时间

编号	6-姜酚		6-姜酚		相对校正因子	平均值	相对保留时间	平均值
	浓度/ μ g \cdot mL ⁻¹	峰面积	浓度/ μ g \cdot mL ⁻¹	峰面积				
1	1 350	2 587 070	1 335	3 220 827	1.259	1.285	1.727	1.728
2	675	1 268 668	667.5	1 617 525	1.289		1.726	
3	337.5	618 791	333.75	773 924	1.265		1.728	
4	168.75	329 151	166.88	417 419	1.282		1.730	
5	84.38	184 379	83.44	232 996	1.278		1.727	
6	42.19	89 126	41.72	115 263	1.307		1.730	
7	21.10	45 421	20.86	58 656	1.306		1.731	
8	10.55	25 256	10.43	32 269	1.292		1.723	

2.6 供试样品的测定

按照 1.3 项制备样品并进行 HPLC 测定, 其中每个样品测定结果均为 3 次测定的平均值, 利用回归

方程和相对校正因子计算各样品中 6-姜酚的含量, 结果如表 3。

表 3 结果经过 F 检验和 t 检验 (置信度 95%), 2

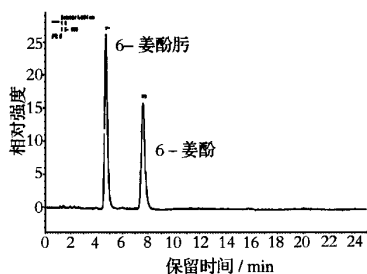


图 2 6-姜酚肟和 6-姜酚的高效液相色谱图

种方法没有显著差异,不存在系统误差。由表 3 结果可以看出:(1)市售腌姜、姜酒已检测不出 6-姜酚,说明其已不含有 6-姜酚,这可能是其在加工过程中遭到破坏所致。(2)干姜的 6-姜酚为鲜姜的 1.63 倍,但一般 8 kg 鲜姜才能获得 1 kg 干姜,这说明干制和贮运过程也可造成 6-姜酚的损失。

表 3 样品测定结果

样 品	外标法		内标法	
	6-姜酚含量 /mg·g ⁻¹	RSD /%	6-姜酚含量 /mg·g ⁻¹	RSD /%
鲜 姜	1.78±0.043	2.4	1.86±0.035	1.9
干 姜	2.91±0.052	1.8	3.04±0.07	2.3
腌 姜	—	—	—	—
市售姜酒	—	—	—	—
调配姜酒	0.117±0.002	1.6	0.115±0.001	1.1

注:—,未检测出。

3 结 论

通过回收率、精密度等指标检查以及与 6-姜酚外标法的比较,证实以 6-姜酚肟为内标测定生姜及其制品中的 6-姜酚是可行的。该方法可解决姜酚标样昂贵、不易获得等姜酚测定中的难题。

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 He Xianguo, Bernart W M, Lian Lizhi, et al. High-performance liquid chromatography-electrospray mass spectrometric analysis of pungent constituents of ginger[J]. Journal of Chromatography A, 1998,796(2):327~334
- 5 黄雪松. 利用 6-姜酚肟测定生姜及其制品中 6-姜酚的方法[P]. 中国专利,1811412A. 2006-08
- 6 黄雪松. 姜酚肟及其合成与应用[P]. 中国专利,1680290A. 2005-10
- 7 胡育筑. 分析化学简明教程[M]. 北京:科学出版社,2004. 288

Determination of 6-gingerol in Ginger and Its Produces by Using 6-gingerol Oxime as the Internal Standard

Qu Xiang, Lu Xiaoxu, Huang Xuesong

(Department of Food Science and Engineering, Jinan University,Guangzhou, 510632,China)

ABSTRACT To detect the 6-gingerol in ginger and its products, a method with high performance liquid chromatography (HPLC) was investigated with 6-gingerol oxime as the internal standard substance. HPLC determination was performed on a Diamonsil C18 column and detected at 280 nm. The mobile phase consisted of acetonitrile and water, the flow rate was maintained at 1 mL/min. The method was proved to be linear in the ranges of 10.55~2700 μ g/mL ($r=0.9983$) for 6-gingerol and 10.43~2670 μ g/mL ($r=0.9998$) for its oxime. The limits of detection were 2.12 μ g/mL for 6-gingerol and 2.09 μ g/mL for its oxime. The relative correcting factor and relative retention time of 6-gingerol oxime and 6-gingerol were 1.285 and 1.728. The recoveries were in the range of 96.3%~102.2% and relative standard deviations were less than 2.4% for the oxime. There was no distinct difference between the external standard method and the internal standard method. The contents of 6-gingerol in fresh ginger, dried ginger, ginger wine were measured as 1.86, 3.04, 0.115 mg/g respectively. This method is simple, fast, accurate and convenient.

Key words 6-gingerol, 6-gingerol oxime, ginger(Zingiber officinale Roscoe)