

炮姜炮制过程中 6-姜酚的转化规律及抗氧化活性变化研究

王学芹^{1,2}, 卜超^{1,2}, 顾从文^{1,2},
黄保生^{1,2}, 韩燕全^{1*}, 洪燕^{2*}, 吴德玲²¹安徽中医药大学第一附属医院 国家中医药管理局中药制剂三级实验室, 合肥 230031;²安徽中医药大学 中药复方安徽省重点实验室, 合肥 230012

摘要:通过砂烫法炮制干姜、模拟炮制法结合体外抗氧化实验探讨炮姜炮制过程中 6-姜酚的转化规律以及其转化对体外抗氧化活性的影响。采用 UPLC 测定干姜和不同砂烫工艺炮姜样品中的 6-姜酚、6-姜烯酚和姜酮含量;采用油浴加热模拟炮制 6-姜酚单体,考察不同时间、温度条件下 6-姜酚及其转化产物 6-姜烯酚、姜酮的含量变化规律;测定不同砂烫工艺炮姜样品及 6-姜酚模拟炮制产物的体外抗氧化活性,并采用 SPSS 23.0 进行 6-姜酚含量与抗氧化活性之间的相关性分析。结果显示,随着砂烫时间的延长和温度的升高,炮姜样品中 6-姜酚的含量逐渐下降,6-姜烯酚和姜酮的含量逐渐升高;模拟炮制确认了 6-姜酚经油浴加热后会部分转化为 6-姜烯酚和姜酮;炮姜和 6-姜酚模拟炮制样品中 6-姜酚含量与抗氧化活性之间存在显著正相关。实验结果为揭示炮姜的炮制机理和炮制工艺的优化提供了参考。

关键词:干姜;模拟炮制;6-姜酚;转化规律;抗氧化

中图分类号:R283

文献标识码:A

文章编号:1001-6880(2022)8-1352-09

DOI:10.16333/j.1001-6880.2022.8.011

Study on the transformation rule of 6-gingerol and its antioxidant activity during the processing of ginger

WANG Xue-qin^{1,2}, BU Chao^{1,2}, GU Cong-wen^{1,2},
HUANG Bao-sheng^{1,2}, HAN Yan-quan^{1*}, HONG Yan^{2*}, WU De-ling²¹Grade Three-level Laboratory of TCM Preparation, State Administration of Traditional Chinese Medicine, The First Affiliated Hospital, Hefei 230031, China; ²Anhui Key Laboratory of Compound Chinese Medicine of Anhui Province, Anhui University of Traditional Chinese Medicine, Hefei 230012, China

Abstract: The transformation rule of 6-gingerol and the effect of 6-gingerol transformation on antioxidant activity *in vitro* were studied by sand frying and simulated processing combined with antioxidant test *in vitro*. The UPLC was used to determine the contents of 6-gingerol, 6-shogaol and zingerone in dried ginger and different sand frying processes; The contents of 6-gingerol and its transformation products 6-shogaol and zingerone were investigated under different temperature and time conditions by simulating processing 6-gingerol monomer with oil bath heating; *In vitro* antioxidant activities of processed ginger samples and 6-gingerol simulated processed products were determined by different sand frying processes, and the correlation between 6-gingerol content and antioxidant activities was analyzed by SPSS 23.0. The results showed that with the prolongation of sand frying time and the increase of temperature, the content of 6-gingerol in ginger samples decreased gradually, and the content of 6-shogaol and zingerone increased gradually. The simulated processing confirmed that 6-gingerol could be partially converted into 6-shogaol and zingerone after oil bath heating. There was a significant positive correlation between 6-gingerol content and antioxidant activity in simulated processed samples. The experimental results provided a reference for revealing the processing mechanism and optimization of processing technology of ginger.

收稿日期:2021-12-30 接受日期:2022-07-19

基金项目:安徽省自然科学基金(2108085MH313);2021年度安徽中医药大学临床科研项目(2021yfylc03);安徽省徽派炮制传承工作室项目(皖中医药发展秘[2021]10号)

*通信作者 Tel:86-013155194913; E-mail:hyquan2003@163.com, Hyan2003@163.com

Key words: dried ginger; simulated processing; 6-gingerol; transformation rule; antioxidant

干姜为姜科植物姜 *Zingiber officinale* Rose. 的干燥根茎,味辛,性温,具有温中散寒,回阳通脉,温肺化饮的功效^[1]。炮姜是其临床常用的炮制品,经砂烫炮制后可以缓和干姜的辛辣之性,并增加其温经止血之功效。研究表明,姜酚类成分是姜中主要的辛辣和活性成分,包括6-姜酚、8-姜酚、10-姜酚和12-姜酚等数十种,其具有抗氧化、抗炎解热、神经保护和抗肿瘤等多种药理活性^[2-5]。姜中姜酚类成分以6-姜酚含量最高,也是《中国药典》2020版中生姜、干姜和炮姜含量测定的指标成分。抗氧化活性是6-姜酚具有的主要药理活性之一,6-姜酚分子结构中具有 β -羟基酮以及酚羟基的结构,因此在清除羟基自由基、超氧自由基以及脂质过氧化物等方面具有很好的效果,还能有效的保护过氧化氢所致的DNA损伤,是一种性质优良的天然抗氧化剂^[6,7]。课题组前期对于干姜炮制前后的化学成分的稳定性和定量分析结果表明,干姜在炮制成炮姜后,姜酚类成分含量明显降低,其中,6-姜酚的含量降低在15%~42%之间;而6-姜烯酚、8-姜烯酚和10-姜烯酚等成分含量则显著升高,且在炮制过程中会有新成分姜酮的产生^[8]。但是,炮制对炮姜姜酚成分转化的规律及其活性影响等尚不完全明确,值得进一步研究。

干姜炮制成炮姜后,由于其所含姜酚类成分的“质”“量”变化,药效作用也发生了相应的转变。为了探讨炮姜炮制过程中姜酚类成分的转化规律以及其成分转化对活性的影响,本实验通过测定不同砂烫工艺的炮姜样品中6-姜酚、6-姜烯酚和姜酮的含量变化,结合6-姜酚单体模拟炮制方法,探讨6-姜酚及其转化产物6-姜烯酚、姜酮随炮制时间和炮制温度的变化规律;同时,采用体外抗氧化的方法,初步验证成分转化与抗氧化活性的相关性,以期能为揭示炮姜的炮制机理提供依据。

1 材料

1.1 仪器

Waters Acquity UPLC 超高效液相色谱仪(美国 Waters 公司);分析天平(1/10万,上海梅特勒-托利多有限公司,ME55);超声波清洗仪(江苏省昆山超声仪器有限公司,KQ-300DE);离心机(科大创新股份有限公司中传分公司,KDC-16H);酶标仪(Thermo Fisher Scientific,1510-02261C)。

1.2 试剂

6-姜酚(纯度 $\geq 98.0\%$,批号13012303)、6-姜

烯酚(纯度为 $\geq 98.0\%$,批号DST190623-030)、姜酮(纯度为 $\geq 98.0\%$,批号DST190513-032)对照品均购于成都德思特生物技术有限公司;色谱级甲醇(Sigma,批号67-56-1);色谱级乙腈(Sigma,批号75-05-8);屈臣氏蒸馏水(广州屈臣氏食品饮料有限公司,批号20210302);1,1-二苯基-2-三硝基苯肼(DP-PH,上海源叶生物科技有限公司,批号TN1121CB14);2,2'-联氨双(3-乙基苯并噻唑啉-6-磺酸)(ABTS,批号HA23)、2,4,6-三吡啶基三嗪(TPTZ,批号D1417044)均购于上海笛柏生物科技有限公司。

干姜饮片购于铜陵禾田中药饮片股份有限公司(批号20191012),经本文通讯作者安徽中医药大学第一附属医院韩燕全主任中药师鉴定符合《中国药典》2020版项下性状鉴别规定。

2 方法与结果

2.1 不同砂烫工艺对干姜中6-姜酚、6-姜烯酚及姜酮含量的影响

2.1.1 样品的制备

称取净干姜饮片每份100 g,共计10份。留取一份备用,其余参考课题组前期的研究方法^[9],于(170 \pm 2)、(190 \pm 2)、(210 \pm 2) $^{\circ}\text{C}$ 分别砂烫6、7、8 min,制备成不同工艺的炮姜(见表1)。实验中测定离锅底1.0 cm处温度设定为砂烫温度,不断翻炒至试验设定时间,急出锅,筛去砂子,放凉,粉碎,过40目筛,即得不同砂烫工艺的炮姜样品粉末,实验重复进行两次,结果取平均值。

表1 干姜和不同砂烫工艺的炮姜样品

Table 1 Dried ginger and different sand frying process of ginger samples

编号 No.	砂烫温度 Sand frying temperature($^{\circ}\text{C}$)	砂烫时间 Sand frying time(min)
J1	-	-
J2	170 \pm 2	6
J3	170 \pm 2	7
J4	170 \pm 2	8
J5	190 \pm 2	6
J6	190 \pm 2	7
J7	190 \pm 2	8
J8	210 \pm 2	6
J9	210 \pm 2	7
J10	210 \pm 2	8

2.1.2 对照品溶液的制备

精密称取 6-姜酚、6-姜烯酚、姜酮对照品适量,加甲醇制成每 1 mL 含 6-姜酚 0.831 mg、6-姜烯酚 0.434 mg、姜酮 0.170 mg 的对照品储备液,精密移取上述对照品储备液 1.0、2.0、3.0、4.0、5.0 mL 置于 10 mL 量瓶中,加甲醇定容至刻度,摇匀,得到系列浓度的混合对照品溶液。

2.1.3 供试品溶液制备

取干姜和不同砂烫工艺的炮姜样品粉末(过 40 目筛)约 0.5 g,精密称定,置具塞锥形瓶中,精密加入甲醇 20 mL,称定重量,超声处理(功率 150 W,频率 40 kHz)30 min,放冷,再称定重量,用甲醇补足减

失的重量,摇匀,滤过,取续滤液,即得。

2.1.4 色谱条件

色谱条件:Agilent ZORBAX Eclipse Plus C₁₈ 色谱柱(2.1 × 100 mm,1.8 μm);乙腈(A)-水溶液(B)为流动相,梯度洗脱:0~12 min,10%→75% A;12~17 min,75% A;17~18 min,75%→90% A;18~22 min,90% A;22~23 min,90%→10% A,23~25 min,10% A,检测波长为 280 nm,流速为 0.25 mL/min,柱温为 30 °C,进样量:2 μL,UPLC 图见图 1。

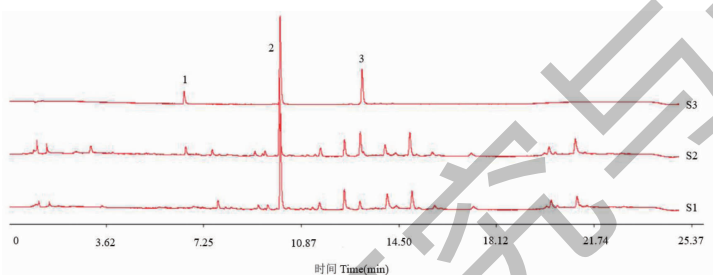


图 1 干姜(S1)、炮姜(S2)和混合对照品(S3)的 UPLC 图

Fig. 1 UPLC diagram of dried ginger (S1), processed ginger (S2) and mixed reference standard (S3)

注:1:姜酮;2:6-姜酚;3:6-姜烯酚。Note:1:Zingerone;2:6-Gingerol;3:6-Shogaol.

2.1.5 方法学考察

2.1.5.1 检测限与定量限

分别取 6-姜酚、6-姜烯酚、姜酮对照品溶液适量,加入甲醇溶液逐步稀释,以信噪比 3:1 时对应对照品浓度为检测限(limit of detection, LOD),以信噪比 10:1 时对应对照品浓度为定量限(limit of quantitation, LOQ)进行测定,结果见表 2。

表 2 6-姜酚、6-姜烯酚和姜酮的线性回归方程

Table 2 Linear regression equation of 6-gingerol, 6-shogaol and zingerone

对照品 Reference substance	回归方程 Regression equation	线性范围 Linear range (μg/mL)	<i>r</i>	LOD (μg/mL)	LOQ (μg/mL)
6-姜酚 6-Gingerol	$Y = 364\ 730 X - 40\ 082$	83 ~ 416	0.999 6	0.372	1.116
6-姜烯酚 6-Shogaol	$Y = 195\ 495 X - 22\ 718$	43 ~ 217	0.999 8	0.645	1.934
姜酮 Zingerone	$Y = 42\ 810 X - 8\ 523.6$	17 ~ 85	0.999 7	1.022	3.066

2.1.5.3 精密度试验

精密吸取“2.1.2”项下混合对照品溶液 2 μL,按“2.1.4”项下色谱条件连续进样 6 次,计算 6-姜酚、6-姜烯酚、姜酮峰面积的 RSD 分别为 0.96%、

0.73%、0.18%,表明仪器精密度良好。

2.1.5.4 稳定性试验

取 10 号(J10)供试品溶液,按“2.1.4”项下色谱条件,分别在 0、2、4、8、12、24 h 进样测定,计算 6-

姜酚、6-姜烯酚、姜酮的峰面积的 RSD 分别为 2.50%、2.26%、3.16%，表明样品中这三种姜酚类成分在 24 h 内稳定性良好。

2.1.5.5 重复性试验

取 5 号(J5)炮姜样品粉末,按“2.1.3”项下制备方法制备 6 份供试品,再按“2.1.4”项下条件测定,计算 6-姜酚、6-姜烯酚、姜酮含量的平均值分别

为 5.02、1.03、0.09 mg/g, RSD 分别为 1.67%、1.56%、2.58%,表明该方法重复性良好。

2.1.5.6 加样回收试验

取 6 号(J6)炮姜样品粉末 0.25 g 左右,精密称定,共 6 份,加入各对照品母液适量,按“2.1.3”项下方法制备供试品溶液,按“2.1.4”项下色谱条件测定,计算加样回收率和 RSD 值,结果见表 3。

表 3 6-姜酚、6-姜烯酚和姜酮的加样回收率实验结果

Table 3 Test results of recovery rate of 6-gingerol,6-shogaol and zingerone

成分 Component	样品量 Quality of sample (g)	原有量 Original quantity(μg)	加入量 Addition(μg)	测得量 Measure(μg)	回收率 Recovery (%)	平均回收率 Average recoveries (%)	RSD (%)
6-姜酚 6-Gingerol	0.250 2	1 135.1	1 135.0	2 257.3	98.9	99.6	2.46
	0.250 3	1 136.3	1 135.0	2 276.5	100.5		
	0.250 2	1 140.2	1 135.0	2 310.2	103.1		
	0.250 2	1 135.3	1 135.0	2 227.2	96.2		
	0.250 1	1 148.2	1 135.0	2 295.1	101.0		
	0.250 0	1 032.4	1 135.0	2 143.6	97.9		
6-姜烯酚 6-Shogaol	0.250 2	295.2	295.0	596.7	102.2	102.2	1.13
	0.250 3	295.3	295.0	595.3	101.7		
	0.250 2	296.1	295.0	599.5	102.8		
	0.250 2	295.2	295.0	599.7	103.2		
	0.250 1	295.5	295.0	591.2	100.2		
	0.250 0	295.2	295.0	599.8	103.3		
姜酮 Zingerone	0.250 2	30.2	30.2	60.8	101.7	101.3	1.52
	0.250 3	29.7	30.2	59.4	98.3		
	0.250 2	30.2	30.2	61.1	102.3		
	0.250 2	29.6	30.2	60.3	101.7		
	0.250 1	30.5	30.2	61.4	102.6		
	0.250 0	30.3	30.2	60.9	101.3		

2.1.6 样品含量测定

取“2.1.3”项下的供试品溶液,按“2.1.4”项下

色谱条件测定,进样量为 2 μL,根据外标法计算 6-姜酚、6-姜烯酚、姜酮的含量,结果见表 4。

表 4 不同砂烫时间和温度对于姜中 6-姜酚、6-姜烯酚及姜酮含量的影响 (n=2)

Table 4 Effects of different sand frying temperature and time on the contents of 6-gingerol,6-gingerol and zingiberene in dried ginger (n=2)

温度 Temperature (°C)	6-姜酚 6-Gingerol(mg/g)				6-姜烯酚 6-Shogaol(mg/g)				姜酮 Zingerone(mg/g)			
	0 min	6 min	7 min	8 min	0 min	6 min	7 min	8 min	0 min	6 min	7 min	8 mi
170 ± 2		6.64	5.57	4.56		0.90	1.00	1.31		0	0.08	0.17
190 ± 2	7.25	5.29	4.52	3.90	0.65	1.01	1.18	1.51	0	0.08	0.12	0.20
210 ± 2		4.38	3.61	3.85		1.01	1.07	1.51		0.10	0.11	0.28

结果表明,随着砂烫时间的延长和温度的升高,

6-姜酚含量逐渐降低,6-姜烯酚和姜酮的含量逐渐

升高。其中,干姜样品和 $(170 \pm 2)^\circ\text{C}$ 砂烫 6 min 的炮姜样品中均未检测到姜酮,在温度和时间达到一定程度,即 $(170 \pm 2)^\circ\text{C}$ 砂烫 7 min 和 $(190 \pm 2)^\circ\text{C}$ 砂烫 6 min 时才检测到姜酮的产生,说明姜酮为干姜经炮制后新生成的成分。

2.2 模拟炮制对 6-姜酚及其转化产物 6-姜烯酚、姜酮含量的影响

2.2.1 6-姜酚模拟炮制供试品的制备

精密称定 6-姜酚对照品 5 mg 左右,共 21 份,置

于 10 mL 容量瓶中,留取一份备用,其余于 170、190、210、230 $^\circ\text{C}$ 下,分别油浴 4、6、8、10、12 min,放冷,加甲醇溶解定容,即得 6-姜酚模拟炮制的供试品溶液。

2.2.2 6-姜酚模拟炮制产物的含量测定

取“2.2.1”项下的供试品溶液,按“2.1.4”的色谱条件进样,6-姜酚和其模拟炮制品的代表性 UPLC 图见图 2,S2 ~ S5 分别为 6-姜酚 170、190、210、230 $^\circ\text{C}$ 油浴 8 min 的模拟炮制品。

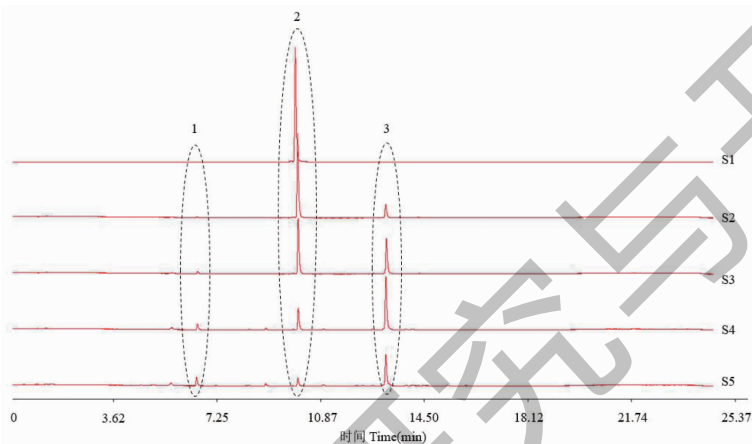


图 2 6-姜酚(S1)和模拟炮制品(S2~S5)的代表性 UPLC 图

Fig. 2 Representative UPLC diagram of 6-gingerol (S1) and simulated processed products (S2-S5)

注:1:姜酮;2:6-姜酚;3:6-姜烯酚。Note:1:Zingerone;2:6-Gingerol;3:6-Shogaol.

通过计算 6-姜酚模拟炮制品中 6-姜酚及其转化产物 6-姜烯酚和姜酮的含量,以含量对炮制温度

和时间作图,得三种成分含量随炮制时间、温度的变化趋势图,结果见图 3。

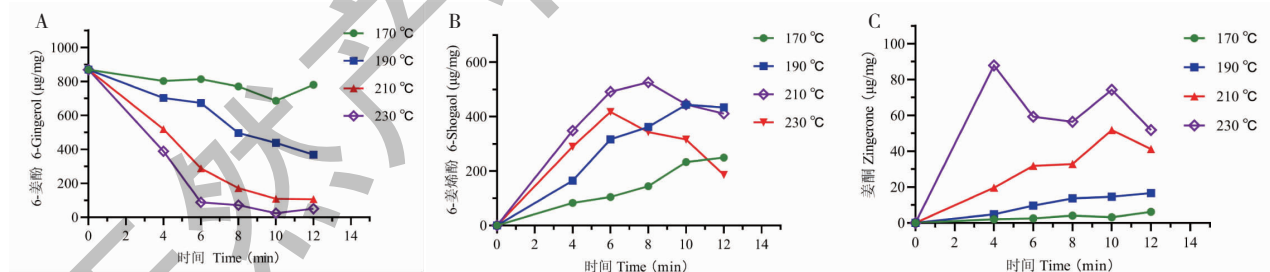


图 3 6-姜酚、6-姜烯酚和姜酮含量变化趋势($n=2$)

Fig. 3 Change trend of contents of 6-gingerol, 6-shogaol and zingerone ($n=2$)

图 3 结果显示,6-姜酚、6-姜烯酚和姜酮的含量随油浴时间和油浴温度的变化呈现一定的量变规律。图 3A 可见,6-姜酚在油浴温度为 170 $^\circ\text{C}$ 时,随着油浴时间的延长,含量呈现缓慢下降的趋势;油浴温度达到 190 $^\circ\text{C}$ 、6 min 时下降趋势开始加快,当温度达到 230 $^\circ\text{C}$ 以上时,6-姜酚含量呈现加快下降趋势,但 6 min 之后降低幅度较平缓。

由图 3B 可见,6-姜烯酚含量在 190 $^\circ\text{C}$ 以内时,随着油浴时间的延长逐渐上升,在 10 min 时达到平台期,当温度在 210 $^\circ\text{C}$ 以上时,上升趋势进一步加快,但在 6 min 左右时开始呈现下降趋势;姜酮的量变规律如图 3C 所见,当油浴温度在 190 $^\circ\text{C}$ 以内时,随着油浴时间的延长呈现缓慢上升的趋势,当温度在 210 $^\circ\text{C}$ 以上时,姜酮的上升速率开始加快,且 210

℃和230℃均在10min时开始下降。

2.2.3 6-姜酚模拟炮制结果分析

根据文献报道,姜烯酚类成分尤其是6-姜烯酚主要存在于干姜中,生姜中含量较少^[10,11]。这可能与生姜在干燥过程中姜酚类成分发生脱水反应生成姜烯酚类有关,而姜酮只有在加工成炮姜过程中才出现,表明姜酮的产生需要达到一定的温度和时间。

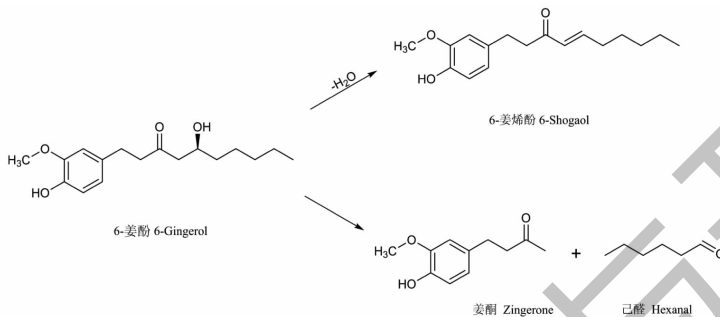


图4 6-姜酚转化机理图

Fig. 4 Transformation mechanism diagram of 6-gingerol

2.3 抗氧化活性测定

2.3.1 供试品溶液的制备

按照“2.1.3”方法制备不同砂烫工艺的炮姜样品供试品溶液,按照“2.2.1”的方法制备6-姜酚模拟炮制产物供试品溶液,再用甲醇分别稀释至1mg/mL和30μg/mL。

2.3.2 DPPH 自由基清除活性

参考文献的方法,稍加改进^[13]。在96孔板中

本实验模拟炮制的结果证实了6-姜酚在油浴加热后生成了6-姜烯酚和姜酮,如图2和图3可见,其主要机理是6-姜酚在一定温度下会发生脱水反应而生成6-姜烯酚,而在温度达到210℃左右时,可引发逆羟醛缩合反应生成姜酮和己醛^[12]。6-姜酚的转化机理见图4。

分别加入100μL 0.1mmol/L的DPPH-甲醇溶液和100μL“2.3.1”项下供试品溶液,充分混匀,置酶标仪中避光孵育30min,在517nm测定反应溶液的吸光度值(A),以100μL甲醇和100μL供试品溶液为对照组(A₁)。以100μL DPPH溶液和100μL甲醇为空白组(A₀)。每组平行设置三个复孔,按清除率公式计算各样品的清除率: DPPH清除率 = $[1 - (A - A_1)/A_0] \times 100\%$,结果见图5。

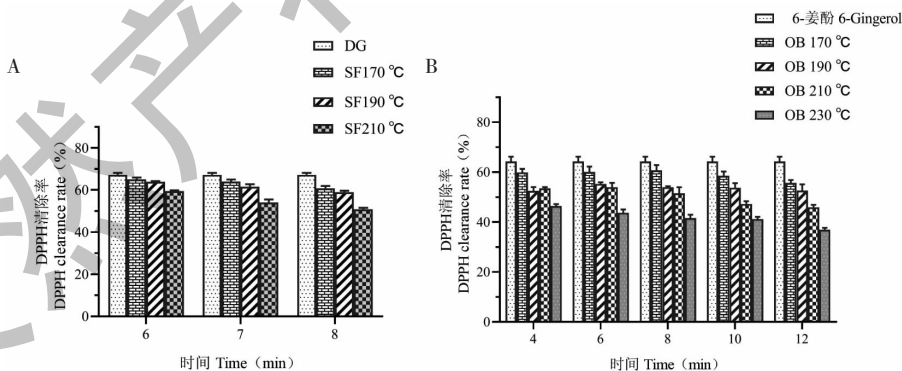


图5 不同砂烫工艺的炮姜样品和6-姜酚模拟炮制产物对DPPH的清除作用

Fig. 5 DPPH scavenging effect of processed ginger samples with different sand frying processes and 6-gingerol simulated processing products

注:A:DG:干姜;SF170~210℃:分别为砂烫170~210℃的炮姜样品;B:OB 170~230℃:分别为6-姜酚油浴170~230℃的模拟炮制产物,下同。Note:A:DG:Dried ginger;SF170-210℃:The samples of ginger were sand frying at 170-210℃;B:OB 170-230℃:The simulated processed products were 6-gingerol oil bath heated at 170-230℃,The same below.

炮姜样品和6-姜酚模拟炮制产物的DPPH清除率均随炮制时间的延长和温度的升高逐渐降低。由

图5A所示,当砂温度在190℃、时间7min以内时,炮姜样品的DPPH清除率会缓慢降低,当温度在

210 ℃、时间 8 min 以上时, DPPH 清除率则会显著降低;由图 5B 所示,6-姜酚模拟炮制产物比炮姜样品更易受时间和温度的影响,其 DPPH 清除率在油浴 190 ℃、4 min 时即出现显著下降变化。

2.3.3 ABTS 自由基清除活性

参考文献的方法,稍加改进^[14]。将 7.4 mmol/L ABTS 溶液与 2.6 mmol/L 过硫酸钾溶液混合,置于暗处孵育 12 h,得 ABTS 储备液。使用前将 ABTS 储

备液用蒸馏水稀释至 ABTS 工作液。在 96 孔板中分别加入 20 μL 供试品溶液和 180 μL 的 ABTS 工作液,于室温孵育 6 min 后,在 734 nm 处测量反应溶液的吸光度值(A),以 20 μL 供试品溶液和 180 μL 蒸馏水为对照组(A₁),以 20 μL ABTS 和 180 μL 蒸馏水为空白组(A₀),按清除率公式计算各样品的清除率:ABTS 清除率 = $[1 - (A - A_1)/A_0] \times 100\%$,结果见图 6。

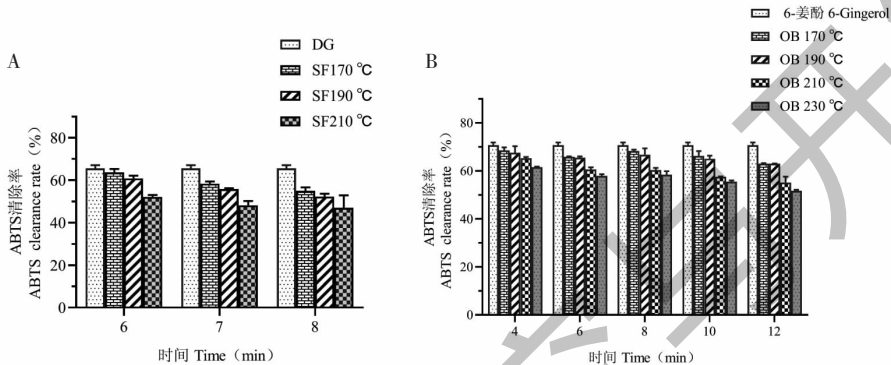


图 6 不同砂烫工艺的炮姜样品和 6-姜酚模拟炮制产物对 ABTS 的清除作用

Fig. 6 ABTS scavenging effect of processed ginger samples with different sand frying processes and 6-gingerol simulated processing products

由图 6A 所示,炮姜样品的 ABTS 清除率变化趋势与 DPPH 清除率结果相似,其中下降最显著的为 210 ℃砂烫 8 min 的炮姜样品,下降了 16.32%,相同时间下,温度越高,ABTS 清除率下降越显著;由图 6B 可见,6-姜酚模拟炮制产物的 ABTS 清除率变化趋势总体呈逐渐下降的趋势,并随着油浴时间的延长和温度的升高逐渐显著。

2.3.4 总还原能力测定(FRAP 法)

参考文献的方法,稍加改进^[15]。将 100 mL 300 mmol/L 乙酸盐缓冲液,10 mL 10 mmol/L TPTZ 工作液,10 mL 20 mmol/L FeCl₃ 溶液混合,避光保存,得

FRAP 工作液,于 96 孔板中分别加入 20 μL 供试品溶液和 180 μL 的 FRAP 工作液,振摇混匀,在室温下反应 30 min,于 593 nm 处测定吸光度值(A_样);以甲醇为空白组记(A₀)。

以不同浓度 FeSO₄ 溶液的吸光度值为纵坐标,质量浓度为横坐标,绘标准曲线,FeSO₄ 的回归方程为 $A = 0.8375 X + 0.0573 (r = 0.9991)$,在质量浓度为 0.239 ~ 1.217 范围内线性关系良好。以公式 $A = A_{\text{样}} - A_0$ 计算,代入上述标准曲线,计算 FeSO₄ 当量,结果见图 7。

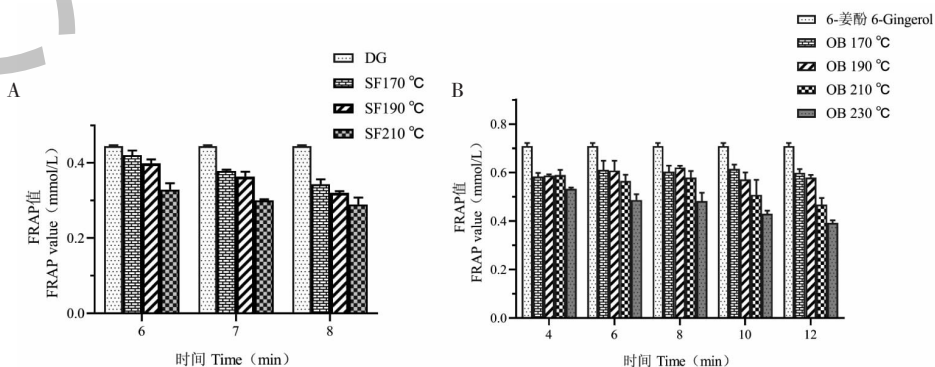


图 7 不同砂烫工艺的炮姜样品和 6-姜酚模拟炮制产物的总还原能力

Fig. 7 The total reducing ability of processed ginger samples with different

由图7A所示,炮姜样品的总还原能力的变化趋势与DPPH和ABTS清除率变化趋势一致,210℃的炮姜样品的总还原能力随砂烫时间的延长逐渐降低后趋于稳定;在图7B中,模拟炮制产物的总还原能力在油浴时间较短时,没有明显的变化规律,当油浴时间延长至10、12 min时,总还原能力才呈现逐渐降低的趋势。

2.4 6-姜酚含量与抗氧化性相关性分析

为了排除干姜和炮姜样品中其他成分对抗氧化活性的影响,实验以6-姜酚及其模拟炮制产物作为研究对象,采用SPSS 23.0软件对模拟炮制产物中6-姜酚含量与DPPH清除率、ABTS清除率和总还原能力等抗氧化性指标进行相关性分析,Prism graphpad 8.0.1绘图,结果见表5和图8。

表5 6-姜酚含量与抗氧化性相关性分析

Table 5 Correlation analysis of 6-gingerol content and antioxidant activity

项目 Item	皮尔逊相关系数 Pearson correlation coefficient			
	6-姜酚 6-Gingerol	DPPH	ABTS	FRAP
6-姜酚 6-Gingerol	1			
DPPH	0.950 *	1		
ABTS	0.968 **	0.917 *	1	
FRAP	0.853	0.924 *	0.891 *	1

注: * 显著相关($P < 0.05$); ** 极显著相关($P < 0.01$)。

Note: * Significant correlation ($P < 0.05$); ** Extremely significant correlation ($P < 0.01$).

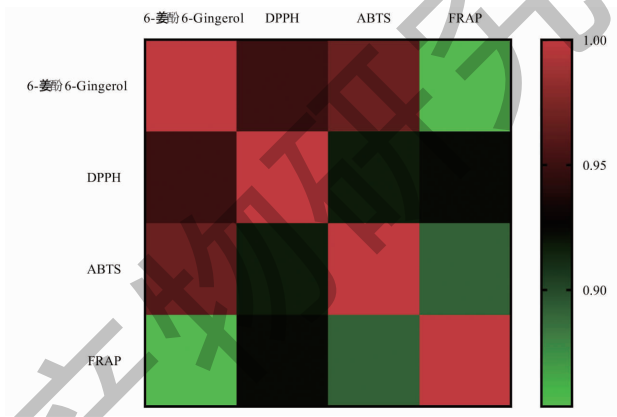


图8 6-姜酚含量与抗氧化性相关性分析热图

Fig. 8 Heat diagram of correlation analysis between 6-gingerol content and antioxidant activity

由表5和图8可知,6-姜酚含量与ABTS清除率在0.01水平极显著正相关,6-姜酚含量与DPPH清除率、FRAP清除率在0.05水平显著正相关,因此6-姜酚含量与抗氧化性之间存在相关性。

3 讨论与结论

课题组前期在炮制温度180~200℃,炮制时间6、7、8 min中优选炮姜的炮制工艺,本实验在此基础上选取了170±2、190±2、210±2℃分别炮制6、7、8 min的工艺,制备不同砂烫工艺的炮姜样品。预实验对6-姜酚模拟炮制的温度和时间进行了考察,发现油浴温度在170℃以下时,6-姜酚模拟炮制产物中未能检测到姜酮,当油浴温度在250℃,油浴时间15 min时,6-姜酚模拟炮制产物已出现碳化现

象,因此我们选取油浴温度170、190、210、230℃,时间4、6、8、10、12 min来作为6-姜酚模拟炮制的条件考察。

通过不同砂烫工艺炮姜样品中6-姜酚含量及抗氧化活性结果分析,可以看出当砂烫温度在(190±2)℃、时间7 min以内时,炮姜样品的外观符合炮制品质量要求,其6-姜酚的含量也满足炮姜的质量控制要求,对抗氧化活性的影响也较小。因此,在确定炮姜的炮制工艺时,砂烫温度应选择在190℃左右,砂烫时间7 min为宜,这与课题组前期优选的炮姜炮制工艺195℃,7 min相近。6-姜酚模拟炮制结合体外抗氧化实验的结果表明,其含量与抗氧化活性之间存在显著正相关,即随着炮制时间的延长和

炮制温度的升高,6-姜酚部分转化为6-姜烯酚和姜酮,使得炮姜的抗氧化活性也逐渐降低减弱,这表明炮制加工会在一定程度上减弱炮姜样品的抗氧化活性。

本文对6-姜酚模拟炮制产物中6-姜酚及其转化产物6-姜烯酚和姜酮的量变规律及对抗氧化活性的影响进行了初步研究,因6-姜酚含有酚羟基和 β -羟基酮,有较明确的抗氧化活性,因此选择了体外抗氧化这一指标,能够初步体现其活性变化。由于干姜炮制成炮姜,主要增强了其温经止血功效,我们后续将更有针对性地选择与炮姜功效相关的指标如凝血、止血等,通过细胞实验和整体动物实验综合评价炮制过程中姜酚类成分转化对炮姜功效的影响。

参考文献

- 1 Chinese Pharmacopoeia Commission. Pharmacopoeia of the People's Republic of China: Vol I (中华人民共和国药典:第一部) [M]. Beijing: China Medical Science Press, 2020:15.
- 2 Nan LP, Wang F, Liu Y, et al. 6-Gingerol protects nucleus pulposus-derived mesenchymal stem cells from oxidative injury by activating autophagy[J]. World J Stem Cells, 2020, 12:1603-1622.
- 3 Bischoff-Kont I, Fürst R. Benefits of ginger and its constituent 6-shogaol in inhibiting inflammatory processes[J]. Pharmaceuticals, 2021, 14:571.
- 4 Zeng GF, Zong SH, Fu SW, et al. Protective effect of 6-gingerol on PC12 cells induced by amyloid β -protein by PI3K / Akt / GSK-3 β signaling pathway[J]. Nat Prod Res Dev (天然产物研究与开发), 2015, 27:1862-1865.
- 5 Sp N, Kang DY, Lee JM, et al. Potential antitumor effects of 6-gingerol in p53-dependent mitochondrial apoptosis and inhibition of tumor sphere formation in breast cancer cells[J]. Int J Mol Sci, 2021, 22:4660.
- 6 Wei AQ. Research on the mechanism of natural antioxidants in inhibiting nitrogen/oxygen free radical damage [D]. Beijing: Beijing University of Technology (北京工业大学), 2018.
- 7 Zhai XY. The protective effects and possible mechanisms of 6-gingerol against hydroxide induced DNA damage in INS-1 cells[D]. Dalian: Dalian Medical University (大连医科大学), 2017.
- 8 Han YQ, Hong Y, Li X, et al. Improvement in quality control of Zingiberis Rhizoma Praeparatum in Chinese Pharmacopoeia (2010 Edition) [J]. Chin Tradit Pat Med (中成药), 2015, 37:160-164.
- 9 Han YQ, Hong Y, Gao JR, et al. Processing technology of Zingiberis Rhizoma Praeparata based on UPLC fingerprints and quantitative determination of index components [J]. Chin Tradit Herb Drugs (中草药), 2013, 44:42-46.
- 10 Zhang YX, Li JS, Chen LH, et al. Simultaneous determination of five gingerols in raw and processed ginger by HPLC [J]. China J Chin Mater Med (中国药学杂志), 2012, 47:471-474.
- 11 Wang ZR, Li ZL, Li MY, et al. Comparison of main components of fresh ginger and dried ginger in Fujian Province [J]. Chin Tradit Pat Med (中成药), 2020, 42:2230-2236.
- 12 Du J. A preliminary study of the chemical composition of carbon ginger [D]. Guangzhou: Guangdong Pharmaceutical University (广东药科大学), 2014.
- 13 Li YX, Hong Y, Han YQ, et al. Chemical characterization and antioxidant activities comparison in fresh, dried, stir-frying and carbonized ginger [J]. J Chromatogr B, 2016, 1011:223-32.
- 14 Li JQ, Zheng YN, Wang K, et al. Study on antioxidant and bacteriostasis activity of ethanol extract of ginger products [J]. Nat Prod Res Dev (天然产物研究与开发), 2015, 27:480-484.
- 15 Benzie I, Strain JJ. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": the FRAP assay [J]. Anal Biochem, 1996, 239:70-76.