

云南产生姜 UHPLC 指纹图谱及 4 种成分定量分析研究

胡力飞^{1,2}, 王冰清², 吴涛²,
梅菊², 杨焯辉², 廖香莲^{2,3}, 殷涛², 孙代华^{2*}

¹湖北工业大学生物工程与食品学院, 武汉 430068;

²湖北省中药配方颗粒工程技术研究中心, 黄石 435100; ³湖北师范大学生命科学学院, 黄石 435002

摘要:采用超高效液相色谱法 (ultra-high performance liquid chromatography, UHPLC) 建立 20 批云南不同产地生姜的指纹图谱, 并对 4 个姜辣素类成分进行定量分析。建立了生姜 UHPLC 指纹图谱并对 20 批样本的 18 个共有峰进行了化学计量学分析; 聚类分析 (cluster analysis, CA) 可将样本分为 4 类, 色谱峰则被分为 3 组, 红河与文山样本比较相近且被聚为 2 类, 曲靖样本被聚为 2 类; 主成分分析 (principal component analysis, PCA) 结果表明, 红河与文山 (云南东南部) 样本间的差异相对较小, 同时两地与曲靖 (云南东部) 样本的差异相对较大, 主成分得分及各变量的载荷分布情况与聚类分析分类结果基本一致; 正交偏最小二乘判别分析 (orthogonal partial least squares discriminant analysis, OPLS-DA) 可实现对云南东南部、云南东部的有效区分, 并筛选了 8 个差异性标志物。含量测定结果表明, 红河与文山生姜样本含量较为相近, 两地与曲靖生姜样本存在一定差异, 差异成分主要为 6-姜辣素、8-姜酚和 6-姜烯酚。本研究可为药用生姜的产地选择、质量综合评价研究提供参考。

关键词:生姜; 指纹图谱; 姜辣素; 化学计量学; 含量测定

中图分类号: R283; R284.1

文献标识码: A

文章编号: 1001-6880(2024)4-0597-11

DOI: 10.16333/j.1001-6880.2024.4.006

Study on UHPLC fingerprint and quantitative analysis of four components of *Zingiber officinale* from Yunnan

HU Li-fei^{1,2}, WANG Bing-qing², WU Tao², MEI Ju²,
YANG Ye-hui², LIAO Xiang-lian^{2,3}, YIN Tao², SUN Dai-hua^{2*}

¹School of Biological Engineering and Food, Hubei University of Technology, Wuhan 430068, China;

²Hubei Provincial Engineering Technology Research Center of Traditional Chinese Medicine Formula Granules, Huangshi 435000, China; ³College of Life Science, Hubei Normal University, Huangshi 435002, China

Abstract: The fingerprints of 20 batches of *Zingiber officinale* from different origins in Yunnan were established by ultra-high performance liquid chromatography (UHPLC), and four gingerols were quantitatively analyzed. The UHPLC fingerprint of *Z. officinale* was established and 18 common chromatographic peaks of 20 batches of samples were analyzed by chemometrics, the samples could be divided into four groups by cluster analysis (CA), the chromatographic peaks were divided into three groups, the samples of Honghe and Wenshan were similar and clustered into two groups; and the samples of Qujing were clustered into two groups. The results of principal component analysis (PCA) showed that the differences between the samples of Honghe and Wenshan (Southeastern Yunnan) were relatively small, while and the differences between the samples of the two places and Qujing (Eastern Yunnan) were relatively large. The distribution of principal component scores and the loading of each variables were basically consistent with the classification results of CA; Orthogonal partial least square discriminant analysis (OPLS-DA) could effectively distinguish southeastern Yunnan and eastern Yunnan, and eight differential markers were screened. The results of content determination showed that the content of Honghe and Wenshan *Z. officinale* samples were

收稿日期: 2023-09-25 接受日期: 2024-02-21

基金项目: 湖北省科技重大专项 (2020ACA007-03); 湖北省科技重大专项 (2022ACA003-03); 黄石市揭榜制科技项目 (2023A005)

* 通信作者 Tel: 86-714-3188926; E-mail: sd61218@126.com

similar, and there were some differences between the two places and Qujing samples. The main differential components were 6-gingerol, 8-gingerol and 6-gingerenol. This study can provide reference for the selection of origins and comprehensive evaluation of quality of medicinal *Z. officinale*.

Key words: *Zingiber officinale* Rosc.; fingerprint; gingerol; chemometrics; content determination

生姜为姜科植物姜 *Zingiber officinale* Rosc. 的新鲜根茎,是我国重要的药食同源中药材之一,在我国有长期的食用历史,作为药物使用始载于《神农本草经》,具有“解表散寒,温中止呕,化痰止咳,解鱼蟹毒”的功效^[1,2]。现代药理研究表明,生姜具有抗炎、抗氧化、抗菌、抗肿瘤、神经保护等多种作用^[3-6]。

生姜含姜辣素、挥发油等多类成分,其中姜辣素是生姜中的重要功能成分和呈味物质,包含 6-姜辣素、8-姜酚、10-姜酚、6-姜烯酚等成分^[7,8]。目前生姜成分定量研究也集中在姜辣素和挥发油方面^[9-11],其中 6-姜辣素、8-姜酚、10-姜酚为《中国药典》(2020 年版)中生姜的指标成分^[1];同时,有学者采用 HPLC、UPLC 指纹图谱进行生姜质量研究^[11,12],但基于 UHPLC 法对生姜同时进行指纹图谱分析及姜辣素成分的含量测定有待进一步研究。

我国生姜种植历史悠久,种质资源丰富,各地均

有一定的地域优势品种,由于各地种植品种的差异、种植环境的不同,所含成分也存在较大差异,云南等地的小黄姜为可供药用选择的产地及品种^[2]。本研究以云南红河、文山、曲靖共计 20 批生姜为研究对象,建立 UHPLC 指纹图谱并开展化学计量学分析,比较不同产地、批次之间的成分差异性,并选取 4 个姜辣素成分进行定量测定与分析,以期为后续的生姜原料质量评价及产地选择提供参考。

1 材料与试剂

1.1 实验材料

本次研究所用 3 个产地共 20 批生姜药材样品均由劲牌持正堂药业有限公司中药资源部采集,采集时间均为 2022 年 12 月,经劲牌持正堂药业有限公司孙代华研究员鉴定为姜科植物姜 *Zingiber officinale* Rosc. 的新鲜根茎,采集产地信息如表 1 所示。

表 1 生姜样品产地信息

Table 1 Origin information of *Z. officinale*

编号 No.	产地来源 Origin	编号 No.	产地来源 Origin
S1	云南省红河哈尼族彝族自治州蒙自市	S11	云南省曲靖市罗平县
S2	云南省红河哈尼族彝族自治州蒙自市	S12	云南省曲靖市罗平县
S3	云南省红河哈尼族彝族自治州蒙自市	S13	云南省曲靖市罗平县
S4	云南省红河哈尼族彝族自治州屏边县	S14	云南省曲靖市罗平县
S5	云南省红河哈尼族彝族自治州屏边县	S15	云南省曲靖市罗平县
S6	云南省文山壮族苗族自治州马关县	S16	云南省曲靖市罗平县
S7	云南省文山壮族苗族自治州马关县	S17	云南省曲靖市罗平县
S8	云南省文山壮族苗族自治州文山市	S18	云南省曲靖市罗平县
S9	云南省文山壮族苗族自治州广南县	S19	云南省曲靖市富源县
S10	云南省曲靖市罗平县	S20	云南省曲靖市会泽县

1.2 实验试剂

乙腈(色谱级,美国 Fisher chemical 公司);4-姜酮醇(批号:w1q21072903,含量 98.0%,四川省维克奇生物科技有限公司);6-姜辣素(批号:111833-201806,含量 99.9%,中国食品药品检定研究院);8-姜酚(批号:111993-201601,含量 93.8%,中国食品药品检定研究院);6-姜烯酚(批号:21-06-0806,含量 99.17%,美国 Sinco Pharmachem 公司);10-姜

酚(批号:111994-202102,含量 99.1%,中国食品药品检定研究院);水为超纯水;其余试剂为分析纯。

1.3 仪器与设备

Agilent 1290 超高效液相色谱仪(美国安捷伦有限公司);ACQUITY UPLC HSS T3 液相色谱柱(2.1 mm × 150 mm, 1.8 μm)(美国沃特世有限公司);XS-105DU 电子分析天平(梅特勒托利多科技有限公司)。

2 方法与结果

2.1 指纹图谱的建立

2.1.1 溶液制备

2.1.1.1 供试品溶液制备

取切成 1~2 mm 的小块的生姜药材约 0.5 g, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 精密加入甲醇 25 ml, 称定重量, 回流提取 30 min, 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。

2.1.1.2 对照品溶液制备

精密称取 4-姜酮醇、6-姜辣素、8-姜酚、6-姜烯酚、10-姜酚的对照品适量, 加甲醇配成 4-姜酮醇、6-姜辣素、8-姜酚、6-姜烯酚、10-姜酚浓度分别为 262.3、4387.6、641.6、311.4、1667.8 mg/L 的对照品储备液; 分别精密吸取 5 个对照品储备液 0.10、0.25、0.50、0.15、0.50 mL 置 20 mL 容量瓶中, 加甲醇稀释至刻度, 摇匀, 即得混合对照品工作液。

2.1.2 色谱条件

色谱柱: ACQUITY UPLC HSS T3 (2.1 mm × 150 mm, 1.8 μm); 流动相: 乙腈 (A)-水 (B), 梯度洗脱 (0~3 min, 30%→50% A; 3~8 min, 50%→54% A; 8~9 min, 54%→60% A; 9~11 min, 60% A; 11~13 min, 60%→64% A; 13~18 min, 64%→66% A; 18~22 min, 66%→85% A; 22~28 min, 85%→87% A; 28~29 min, 87%→95% A; 29~33 min, 95% A); 检测波长: 0~31.5 min 为 220 nm, 31.5~33 min 为 280 nm; 进样量 1 μL; 流速为 0.3 mL/min; 柱温 30 °C。

2.1.3 方法学考察

2.1.3.1 精密度试验

取同一生姜供试品 (S1), 按“2.1.1”项下方法制备供试品溶液, 按“2.1.2”项下色谱条件测定 6 次, 以峰 4 (6-姜辣素) 为参照峰 S, 结果显示各共有峰相对保留时间和相对峰面积相对标准偏差 (relative standard deviation, RSD) 值分别为 0.13%~0.69% 和 0.11%~1.5%, 均小于 2.0%, 表明仪器精密度良好。

2.1.3.2 重复性试验

取同一生姜供试品 (S1), 按“2.1.1”项下方法制备成 6 份供试品溶液, 按“2.1.2”项下色谱条件测定, 以峰 4 (6-姜辣素) 为参照峰 S, 结果显示各共有峰相对保留时间和相对峰面积 RSD 值分别为 0.02%~0.07% 和 0.34%~2.5%, 均小于 3.0%, 表明该方法重复性良好。

2.1.3.3 稳定性试验

取“2.1.3.1”项下供试品溶液, 按“2.1.2”项下色谱条件分别在 0、2、4、6、8、10、24 h 测定, 以峰 4 (6-姜辣素) 为参照峰 S, 结果显示各共有峰相对保留时间和相对峰面积 RSD 值分别为 0.01%~0.09% 和 0.24%~1.9%, 均小于 2.0%, 表明供试品溶液在 24 h 内稳定性良好。

2.1.4 相似度评价

取 20 批生姜样品按上述方法测定, 将色谱图数据导入“中药色谱指纹图谱相似度评价系统 (2012 版)”, 采用中位数法及多点校正后进行色谱峰匹配, 共标定了 18 个共有峰, 分别生成生姜样品的叠

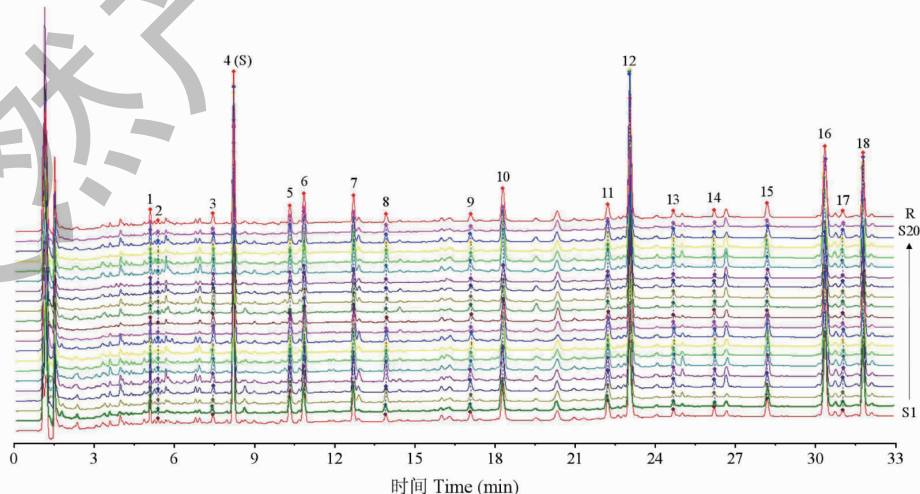


图 1 20 批生姜 UHPLC 指纹图谱及对照指纹图谱 (R)

Fig. 1 UHPLC fingerprints of 20 batches of *Z. officinale* and its reference fingerprint (R)

注: 2: 4-姜酮醇; 4(S): 6-姜辣素; 8: 8-姜酚; 9: 6-姜烯酚; 10: 10-姜酚。Note: 2: 4-Gingerol; 4(S): 6-Gingerol; 8: 8-Gingerol; 9: 6-Shogaol; 10: 10-Gingerol.

加图谱和对照指纹图谱(见图1);通过与对照品比对指认了其中5个色谱峰,分别为4-姜酮醇(2号峰)、6-姜辣素(4号峰,S峰)、8-姜酚(8号峰)、6-姜烯酚(9号峰)、10-姜酚(10号峰)。各批次样品共

有峰相对保留时间RSD值为0.04%~0.14%,计算20批样品指纹图谱与对照指纹图谱的相似度(见图2),相似度均在0.863及以上,表明各批样品有较好的一致性,所建立的指纹图谱可用于评价生姜的质量。

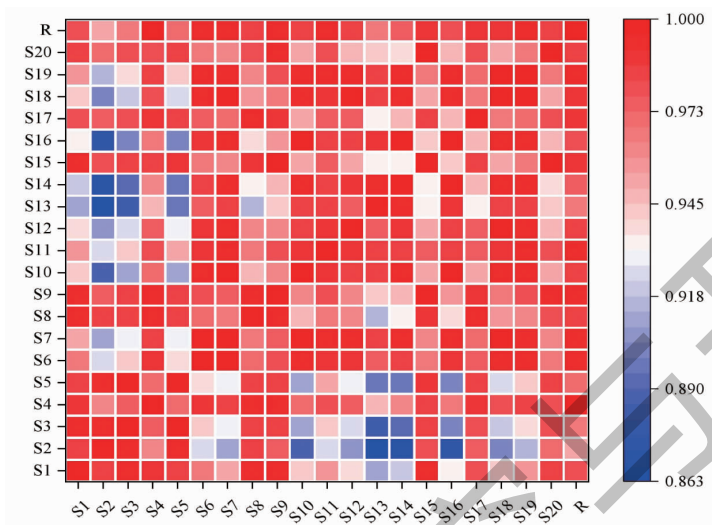


图2 20批生姜UHPLC指纹图谱相似度评价结果

Fig. 2 Similarity evaluation results of UHPLC fingerprints of 20 batches of *Z. officinale*

2.2 化学计量学研究

2.2.1 聚类分析(CA)

以18个共有峰面积为变量,采用OriginPro 2023软件对20批生姜进行聚类分析,以Ward聚类

方法结合Euclidean距离计算对20批生姜样品进行聚类分析,以Ward聚类方法结合Pearson相关性对18个共有峰进行聚类分析,聚类分析结果见图3。

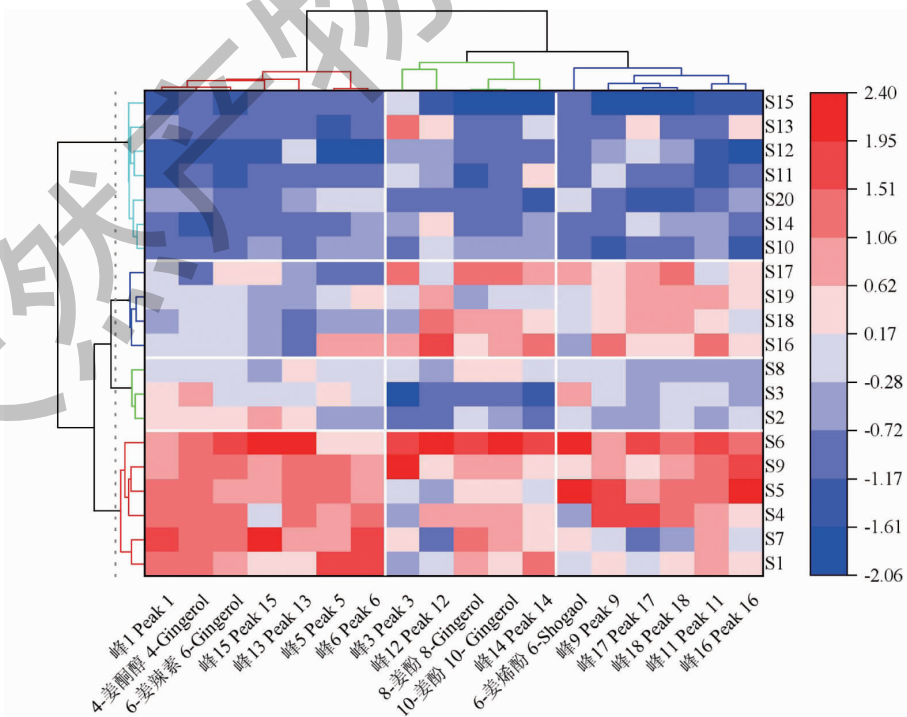


图3 20批生姜聚类分析评价结果

Fig. 3 Evaluation results of cluster analysis of 20 batches of *Z. officinale*

结果表明,当判定距离为 7 时,20 批样本可被分为 4 类,7 批曲靖样本(S10 ~ S15、S20)聚为一类,另外 4 批次曲靖样本(S16 ~ S19)聚为一类;红河与文山样本分类比较分散,其中 S2、S3、S8 聚为一类,且与部分曲靖样本(S16 ~ S19)距离较近;其他红河、文山样本聚为一类。18 个共有峰被分为 3 个组别,4-姜酮醇、6-姜辣素及峰 1、5、6、13、15 为第 1 组,8-姜酚、10-姜酚和峰 3、12、14 为第 2 组,6-姜烯酚和峰 9、11、16、17、18 为第 3 组。从聚类热图中可见,不同产地生姜原料存在一定差异,20 批生姜与 18 个共有峰的聚类之间呈一定相关性,可通过所含化学成分进行区分。

2.2.2 主成分分析(PCA)

以 18 个共有峰面积为变量,采用 Origin Pro 2023 软件对 20 批生姜进行主成分分析,计算相关矩阵的特征值、特征向量和分。确定了特征值 > 1 的 3 个主成分,3 个主成分的累计方差贡献率为

83.79%,其中第一主成分(PC1)解释了总方差的 64.15%,第二主成分(PC2)解释了总方差的 13.84%,第三主成分(PC3)解释了总方差的 5.80%,并以 PC1、PC2 及成分载荷值绘制了 20 批次生姜样本的双标图(见图 4)。20 批云南生姜样本整体可分为两类,第一大类为云南东南部(红河、文山)样本,单一产地样本较为分散,其中 S2、S3、S8 样本较为相近,其他样本(S1、S4 ~ S7、S9)较为相近;第二类为云南东部(曲靖)样本,其中 S16 ~ S19 样本较为相近,而其他样本(S10 ~ S15、S20)较为相近;主成分得分分类和与各变量的主成分载荷分布情况与聚类分类结果基本一致。两种分类方式的结果表明生姜的分类与各批次间的化学成分差异相关,云南红河、文山处于云南省东南部,而曲靖为云南省东部(地处红河、文山北部);生姜成分情况可能与样本种植地区种植情况、气候差异等情况相关。

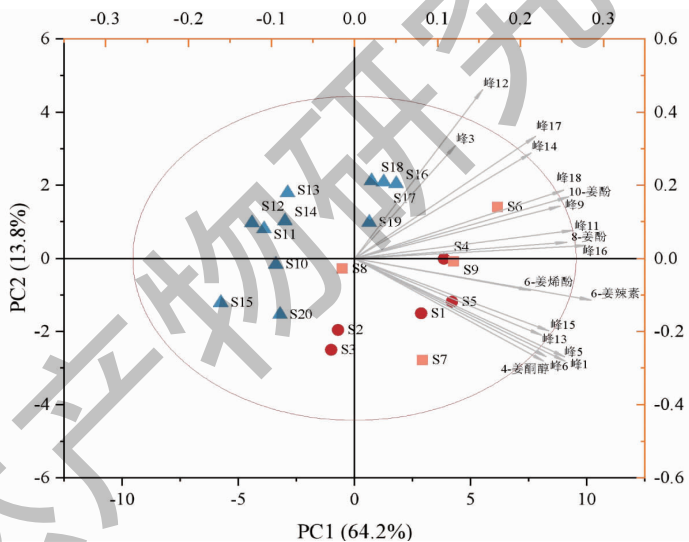


图 4 PCA 双标图

Fig. 4 PCA biplot

2.2.3 正交偏最小二乘判别分析(OPLS-DA)

采用 SIMCA14.1 软件对生姜样本及 18 个共有峰变量进行 OPLS-DA 分析,结果表明,红河、文山两地样本较为相近,通过 OPLS-DA 可实现对云南东南部(红河、文山)、云南东部(曲靖)生姜的有效区分。分析中的自变量拟合指数(R^2X)为 0.778,因变量拟合指数(R^2Y)为 0.824,模型预测指数(Q^2)为 0.714, R^2 和 Q^2 均超过了 0.5,表明该模型拟合结果可接受;同时通过 200 次置换检测, Q^2 回归线与纵轴的相交点小于 0,说明模型不存在过拟合,所建立

的模型有效,认为该结果可用于生姜产地对比分析,相关分析结果如图 5、图 6 所示。OPLS-DA 将生姜样本分为两类,峰面积变量 VIP 值及排序情况如图 7 所示,以 VIP 值大于 1 为阈值,筛选出 8 个贡献值较大的成分,依次为 4-姜酮醇、峰 1、6-姜辣素、峰 6、峰 5、峰 13、峰 15 和峰 11(以聚类分析中的第 1 组别色谱峰为主),其次是 8-姜酚、峰 16、6-姜烯酚和 10-姜酚等成分;判断 8 个 VIP 值大于 1 的成分为区分云南东南部和东部样本的代表性差异成分,两个区域的成分差异可能与两个区域种植环境的不同相关。

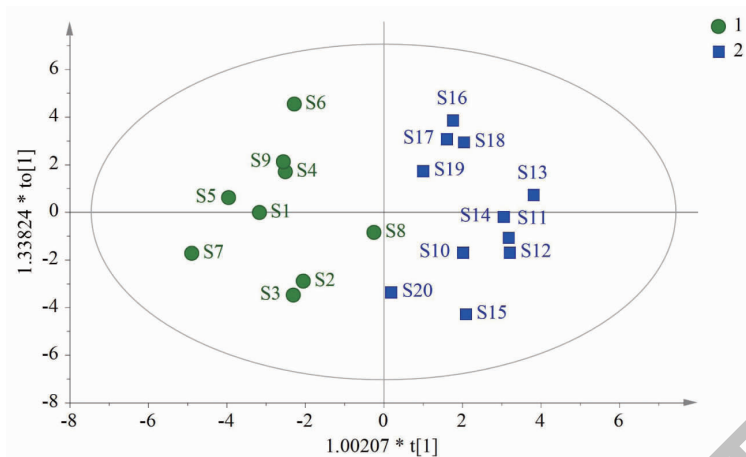


图5 OPLS-DA 得分图

Fig. 5 OPLS-DA score plot

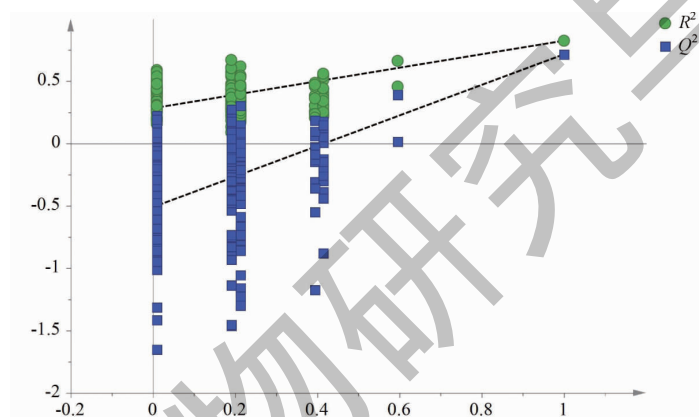


图6 OPLS-DA 模型置换验证图

Fig. 6 OPLS-DA model permutation test diagram

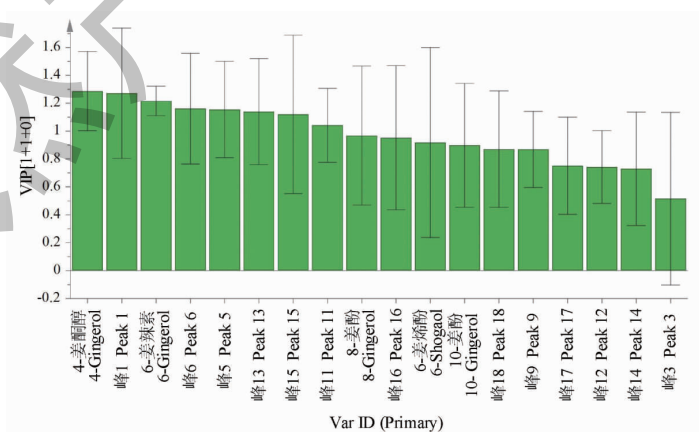


图7 OPLS-DA 模型 VIP 值

Fig. 7 VIP value of OPLS-DA model

2.3 含量测定

结合上述分析及峰面积、对照品规格情况,确定

对 20 批生姜中 6-姜辣素、8-姜酚、6-姜烯酚、10-姜酚 4 个成分进行含量测定。

2.3.1 对照品溶液制备

分别精密吸取“2.1.1.2”项下 6-姜辣素、8-姜酚、6-姜烯酚、10-姜酚对照品储备液适量,加甲醇稀释得浓度分别为 219.4、64.2、9.3、166.8 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的混合对照品工作液。

2.3.2 供试品溶液制备

含量测定供试品溶液制备方法同“2.1.1.1”项下方法。

2.3.3 线性关系考察

将“2.3.1”项下混合对照品工作液按等比稀释法加甲醇分别稀释 2、4、8、16、32 倍,共得到 6 份不同质量浓度的混合对照品溶液,按“2.1.2”项下色谱条件测定,记录 4 个成分峰面积,以峰面积为纵坐标(Y),对照品浓度为横坐标(X),绘制曲线方程,得到回归方程及线性范围,结果如表 2 所示,所得相关系数均在 0.9999 以上,表明 4 个成分线性关系良好。

表 2 各成分线性关系

Table 2 Linear relationship of various constituents

成分 Component	回归方程 Regression equation	相关系数 Correlation coefficient(R)	线性范围 Linear range($\mu\text{g}/\text{mL}$)
6-姜辣素 6-Gingerol	$Y = 4.214X + 2.735$	0.999 9	6.856 ~ 219.380
8-姜酚 8-Gingerol	$Y = 3.742X + 1.068$	0.999 9	2.005 ~ 64.159
6-姜烯酚 6-Shogaol	$Y = 11.19X + 0.742 3$	0.999 9	0.292 ~ 9.342
10-姜酚 10-Gingerol	$Y = 3.537X + 1.730$	0.999 9	5.212 ~ 166.785

2.3.4 精密度试验

取同一生姜供试品(S1),按“2.3.2”项下方法制备成供试品溶液,按“2.1.2”项下色谱条件测定 6 次,分别记录 6-姜辣素、8-姜酚、6-姜烯酚、10-姜酚的峰面积,并计算 RSD 值,结果显示 4 个成分 RSD 值分别为 0.40%、0.72%、0.64%、0.48%,表明仪器的精密度良好,可用于本次实验的测定分析。

2.3.5 重复性试验

取同一生姜供试品(S1),按“2.3.2”项下方法制备成 6 份供试品溶液,按“2.1.2”项下色谱条件进行测定,记录 4 个成分的峰面积,测定含量并计算 RSD 值,4 个成分的平均含量分别为 0.23%、0.043%、0.0044%、0.068%,RSD 分别为 1.1%、0.99%、0.88%、1.4%,表明该方法重复性良好。

2.3.6 稳定性试验

取同一生姜供试品(S1),按“2.3.2”项下方法

制备成供试品溶液,按“2.1.2”项下色谱条件分别在 0、2、4、6、8、10、12、24 h 进样测定,记录 4 个成分的峰面积并计算 RSD 值,结果显示 4 个成分 RSD 值分别为 0.79%、1.0%、1.8%、1.3%,表明供试品溶液在 24 h 内稳定性良好。

2.3.7 加样回收试验

取切成 1 ~ 2 mm 的小块的生姜样品(S1)约 0.25 g 共 6 份,精密称定,分别加入 6-姜辣素 526.513 0 mg/L、8-姜酚 128.318 4 mg/L、6-姜烯酚 9.341 8 mg/L、10-姜酚 250.178 0 mg/L 的混合对照品溶液 1 mL,按“2.3.2”项下方法制备供试品溶液,按“2.1.2”项下色谱条件测定,计算 4 个成分的加样回收率及 RSD 值,结果见表 3。结果表明 4 个成分的平均回收率为 99.36% ~ 101.7%,其 RSD 范围均在 0.75% ~ 1.5%,可以满足 4 个成分的含量测定要求。

表 3 加样回收率试验结果

Table 3 The result of recovery rate test

成分 Component	取样量 Sample weight(g)	原有量 Original amount (mg)	加标量 Added amount (mg)	测得量 Found amount (mg)	回收率 Recovery rate(%)	平均回收率 Average recovery rate(%)	RSD (%)
6-姜辣素 6-Gingerol	0.242 9	0.560 1	0.526 5	1.090 1	100.7	99.36	0.86
	0.244 4	0.563 6	0.526 5	1.079 7	98.02		
	0.241 8	0.557 6	0.526 5	1.080 7	99.35		
	0.253 8	0.585 2	0.526 5	1.108 7	99.43		
	0.252 6	0.582 5	0.526 5	1.105 9	99.41		
	0.249 3	0.574 9	0.526 5	1.097 4	99.24		

续表 3 (Continued Tab. 3)

成分 Component	取样量 Sample weight (g)	原有量 Original amount (mg)	加标量 Added amount (mg)	测得量 Found amount (mg)	回收率 Recovery rate (%)	平均回收率 Average recovery rate (%)	RSD (%)
8-姜酚 8-Gingerol	0.242 9	0.105 4	0.128 3	0.235 0	101.0	101.2	0.75
	0.244 4	0.106 1	0.128 3	0.235 7	101.0		
	0.241 8	0.104 9	0.128 3	0.234 8	101.2		
	0.253 8	0.110 1	0.128 3	0.241 7	102.6		
	0.252 6	0.109 6	0.128 3	0.238 3	100.3		
	0.249 3	0.108 2	0.128 3	0.238 0	101.2		
6-姜烯酚 6-Shogaol	0.242 9	0.010 7	0.009 3	0.020 3	102.8	101.7	1.5
	0.244 4	0.010 8	0.009 3	0.020 3	101.7		
	0.241 8	0.010 7	0.009 3	0.020 0	99.57		
	0.253 8	0.011 2	0.009 3	0.020 9	103.8		
	0.252 6	0.011 1	0.009 3	0.020 6	101.7		
	0.249 3	0.011 0	0.009 3	0.020 4	100.6		
10-姜酚 10-Gingerol	0.242 9	0.165 5	0.250 2	0.419 5	101.5	100.9	0.77
	0.244 4	0.166 5	0.250 2	0.418 4	100.7		
	0.241 8	0.164 8	0.250 2	0.414 6	99.84		
	0.253 8	0.172 9	0.250 2	0.423 9	100.3		
	0.252 6	0.172 1	0.250 2	0.426 5	101.7		
	0.249 3	0.169 9	0.250 2	0.424 2	101.6		

2.3.8 含量测定结果

取 20 批生姜样品,按“2.3.2”项下方法制备供试品溶液,每批样品平行两份,按“2.1.2”项下色谱条件进行含量测定(混合对照品溶液及代表性样品色谱图如图 8 所示),采用外标一点法计算 6-姜辣素、8-姜酚、6-姜烯酚和 10-姜酚的含量,结果见表 4; 4 个成分的平均值含量由高到低分别为 6-姜辣素、10-姜酚、8-姜酚和 6-姜烯酚。红河与文山生姜样本

含量差异不显著;文山生姜样本的 4 个指标成分含量与曲靖样本间呈显著性差异,红河样本 6-姜辣素含量也与曲靖样本呈显著性差异;而云南东南部与东部样本的 6-姜辣素、8-姜酚和 6-姜烯酚同样呈显著性差异,相关的显著性水平及不同产地、不同指标成分的对比情况见图 9(A 图分为红河、文山、曲靖 3 类;B 图分为云南东南部、云南东部 2 类);含量测定结果的对比情况与化学计量学分析情况相一致。

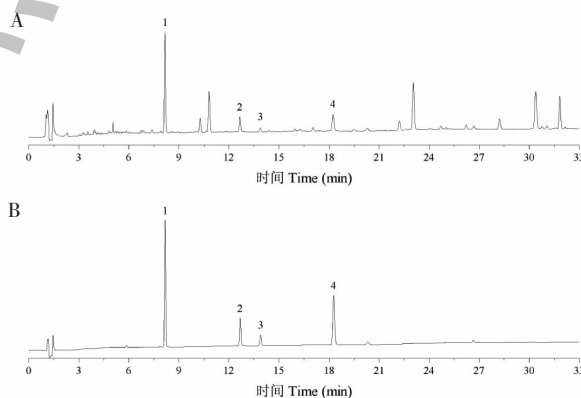


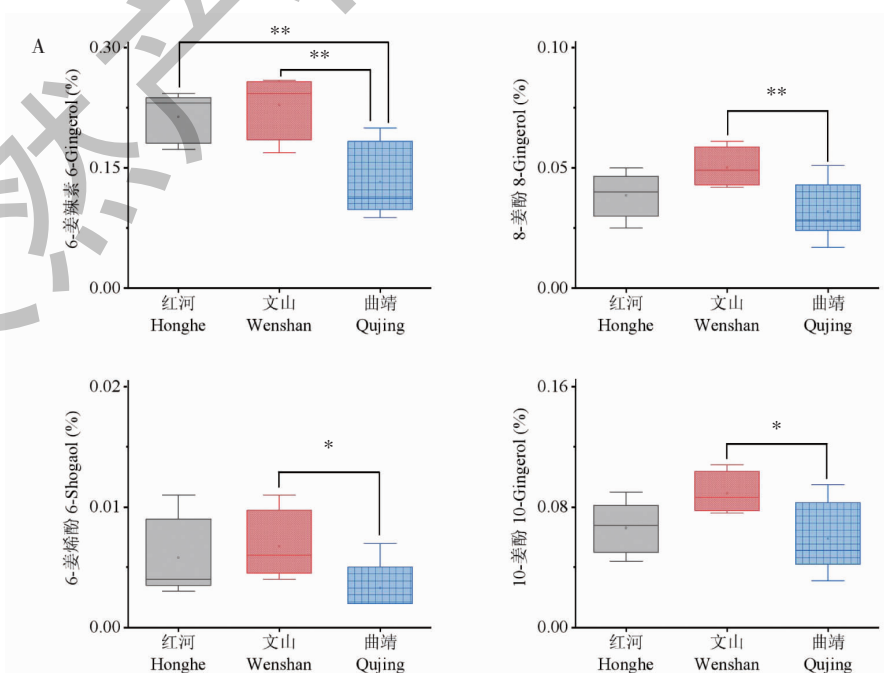
图 8 生姜样品 (A) 及混合对照品 (B) UHPLC 色谱图

Fig. 8 UHPLC chromatograms of *Z. officinale* sample (A) and mixed reference substance (B)

注:1:6-姜辣素;2:8-姜酚;3:6-姜烯酚;4:10-姜酚。Note:1:6-Gingerol;2:8-Gingerol;3:6-Shogaol;4:10-Gingerol.

表 4 生姜药材样品含量测定结果($n = 2$)Table 4 Content determination results of *Z. officinale* samples ($n = 2$)

编号 No.	含量 Content (%)			
	6-姜辣素 6-Gingerol	8-姜酚 8-Gingerol	6-姜烯酚 6-Shogaol	10-姜酚 10-Gingerol
S1	0.23	0.043	0.004 2	0.068
S2	0.19	0.035	0.004 0	0.056
S3	0.17	0.025	0.007 3	0.044
S4	0.24	0.050	0.003 2	0.090
S5	0.23	0.040	0.011	0.072
S6	0.26	0.061	0.011	0.110
S7	0.23	0.052	0.005 7	0.083
S8	0.17	0.042	0.004 4	0.076
S9	0.25	0.046	0.005 9	0.090
S10	0.11	0.032	0.002 2	0.060
S11	0.088	0.023	0.002 4	0.042
S12	0.098	0.027	0.001 8	0.048
S13	0.11	0.024	0.002 3	0.041
S14	0.11	0.028	0.002 2	0.051
S15	0.089	0.017	0.002 0	0.031
S16	0.17	0.043	0.003 4	0.086
S17	0.20	0.051	0.006 6	0.095
S18	0.18	0.046	0.005 1	0.083
S19	0.18	0.034	0.004 6	0.064
S20	0.12	0.026	0.004 1	0.048
平均值 Average	0.17	0.037	0.004 2	0.067



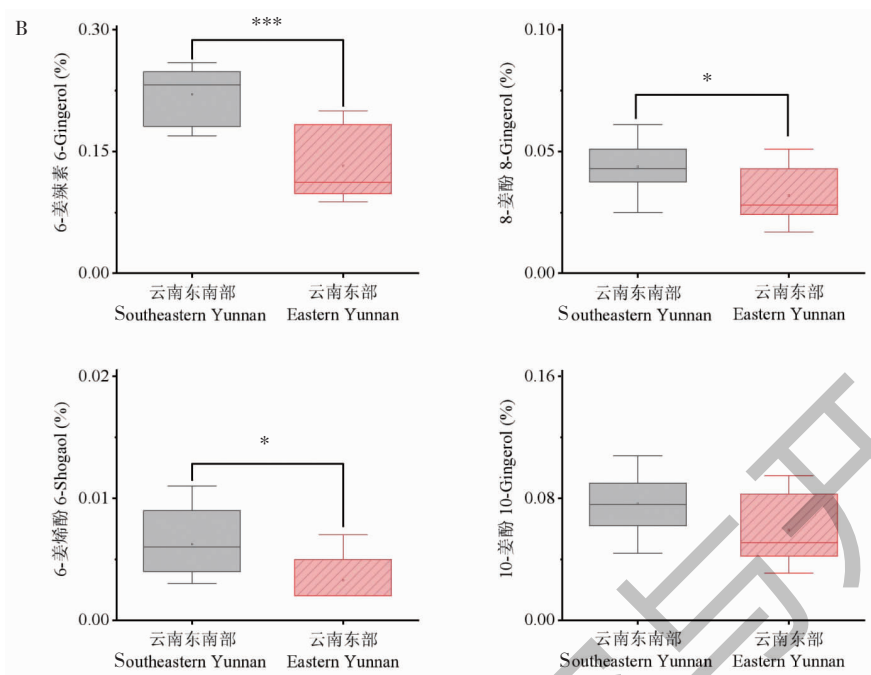


图9 不同生姜产地多指标成分含量对比

Fig. 9 Content comparison of multi-index components in different origins of *Z. officinale*

3 讨论与结论

本研究通过色谱条件优化、供试品制备方法考察建立了生姜UHPLC指纹图谱,并确定了与指纹图谱相同色谱条件的成分定量分析方法。同时为了更好地分析指纹图谱中复杂成分的分布规律和相互作用关系,采用了化学计量学方法对指纹图谱进行了研究^[13]。以18个生姜指纹图谱共有峰面积为变量,采用Origin Pro 2023软件以进行聚类分析和主成分分析,结果表明,虽然各批次样本存在一定差异,但聚类分析与主成分分析均可将样本分为两大类(云南东南部、云南东部),红河与文山两地在地域上东西相邻且两者样本差异相对较小;而与其南北相邻的曲靖样本则与两地差异相对较大(且采集地距离相对较远)。因此,结合3个产区及地域分布情况,采用SIMCA14.1软件进行了OPLS-DA分析,可实现对云南东南部、云南东部生姜的有效区分,且所筛选的贡献值较大的差异性色谱峰与聚类分析、主成分分析中的分类组别相近(4-姜酮醇、峰1、6-姜辣素、峰6、峰5、峰13、峰15和峰11),3种化学计量学分析结果存在一定的关联性;成分差异可能与两个区域种植环境及南北局部气候的不同相关。

品种和产地的选择对于生姜的药用药料选择比较重要,生姜在我国多地均有种植,但各地生姜中

8-姜酚、10-姜酚含量差异较大,云南小黄姜合格率较高^[2],对20批云南生姜样本的定量分析结果表明,虽然与《中国药典》(2020年版)生姜项下6-姜辣素、8-姜酚、10-姜酚的含量测定方法不同,但与其成分含量要求相比,云南3个产地生姜样本含量测定值均比较高,适合作为药用原料;同时4个含量测定结果显示,红河与文山生姜样本含量相对较近,与曲靖生姜样本存在一定差异,且差异主要为6-姜辣素、8-姜酚和6-姜烯酚含量。

本研究建立了生姜UHPLC指纹图谱方法,并可同时实现4个姜辣素类成分的含量测定,可为后期药用生姜的产地选择、质量研究和产业化应用提供参考。

参考文献

- 1 Commission Chinese Pharmacopoeia. 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: 104-105.
- 2 Guo J, Jiang S, Wang Y, et al. Herbal textual research on *Zingiberis Rhizoma Recens* in famous classical formulas and its quality evaluation[J]. Chin J Exp Tradit Med Form(中国实验方剂学杂志), 2022, 28: 27-37.