



ХИМИЯ

УДК 543.54:547.973.633.88

ИНСТРУМЕНТАЛЬНЫЕ МЕТОДЫ В ИССЛЕДОВАНИИ КОМПОНЕНТНОГО СОСТАВА БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ ИМБИРЯ (*ZINGIBER OFFICINALE*)

**Н.Г. Габрук,
Ле Ван Тхуан**

Белгородский
государственный
университет
Россия, 308015, г. Белгород,
ул. Победы, 85

E-mail: Gabruk@bsu.edu.ru;
thuanspho27@yahoo.com

В работе спектрофотометрическим и хроматографическим методами исследован качественный состав биологически активных веществ имбиря. Установлено, что в его состав входят фенольные соединения, обладающие высокой антиоксидантной активностью: рутин и 6-гингерол. Найдено, что в имбире содержится аскорбиновая кислота в количестве 45.68 мг/100 г имбиря, что соизмеримо с её количеством в цитрусовых.

Ключевые слова: имбирь, рутин, 6-гингерол, спектрофотометрия, тонкослойная хроматография.

Введение

Имбирь настоящий (*Zingiber officinale* Roscoe) – многолетнее травянистое растение семейства Имбирные (Zingiberaceae). *Корневище* имбиря имеет вид кругловатых, расположенных преимущественно в одной плоскости, пальчаторазделенных кусочков. Более 2000 лет известен как пряность, универсальное лекарство и лечебное средство, является одним из важнейших национальных продуктов стран юго-восточной Азии. Пряный, терпкий аромат имбиря обусловлен содержащимися в нем эфирными маслами (1/2-3%), а его жгучий вкус зависит от наличия фенольных соединений типа гингерола (основное соединение). Имбирь, как и другие лекарственные растения, содержит сложную смесь фармакологически активных компонентов, среди них бета-каротин, капсаицин, кофеиновая кислота, куркумин. Кроме этого в состав имбиря входят все незаменимые аминокислоты, включая триптофан, треонин, лейзин, метионин, фениланин, валин, соли магния, кальция, фосфора, а также различные витамины [1].

Имбирь относится к веществам растительного происхождения, стимулирующим процессы обмена веществ. Препятствует слипанию тромбоцитов, чем снижает риск возникновения инфаркта. Может использоваться при воспалительных процессах с целью снижения температуры, а также для профилактики и лечения мигрени [2]. Благодаря своим свойствам в последнее время имбирь становится объектом исследования ученых.

Цель данной работы состоит в том, чтобы с помощью спектрофотометрии и тонкослойной хроматографии (ТСХ) провести идентификацию основных биологически активных веществ и определить количество аскорбиновой кислоты в имбире.



Экспериментальная часть

Образцы имбиря привезены из центральной провинции Вьетнама и хранились в холодильнике. Высушивание образцов проводили воздушно-сухим способом.

Экстракт имбиря для исследования готовили следующим образом: навеску 10,00 г высушенных и измельченных частей имбиря помещали в круглодонную колбу и добавляли 100 мл 70%-ного этилового спирта. Кипятили в колбе с обратным холодильником на водяной бане в течение 15 мин. Настаивали 45 мин, процеживали и центрифугировали при 3000 об/мин. Полученный экстракт разбавляли 70%-ым этиловым спиртом до 100 мл [3].

С целью идентификации фенольных соединений спектрофотометрическим методом была использована реакция комплексообразования с раствором $AlCl_3$ – эта реакция является селективной для фенольных соединений и дает батохромный сдвиг спектра [4]. Приготовленный водноспиртовой экстракт имбиря спектрофотометрировали на спектрометре Specord 50 в диапазоне длин волн 200–500 нм до и после добавления равного объема 2% - ного раствора хлорида алюминия.

Для разделения и идентификации фенольных соединений применяли тонкослойную хроматографию на пластине «Силуфол» в системе растворителей: н-бутанол – ледяная уксусная кислота – вода (БУВ) в соотношении 5:1:4. В качестве свидетелей использовали ГСО рутин и кверцетин. Полученные хроматограммы проявляли 1%-ным спиртовым раствором хлорида алюминия. Рассчитывали значения R_f

Качественное определение аскорбиновой кислоты в имбире проводили с использованием метода ТСХ. Система растворителей: этилацетат – ледяная уксусная кислота (80:20), проявитель – 2,6-дихлорфенолидофенолят натрия. Аскорбиновую кислоту обнаруживали в виде белого пятна на розовом фоне. Количество аскорбиновой кислоты определяли по ГОСТ 24556 – 89 [5]. Для этого, 10,00 г образца растирали с кварцевым песком и небольшими количествами экстрагирующего раствора соляной кислоты, перенесли в мерную колбу вместимостью 100 см³, смывая ступку и пестик небольшими порциями экстрагирующего раствора до тех пор, пока объем раствора не достигнет метки. Выдерживали в течение 10 мин, перемешивали и фильтровали. Затем в коническую колбу вместимостью 50 см³ вносили 5 см³ экстракта, доводили объем водой до 15 см³ и титровали раствором 2,6-дихлорфенолидофенолята натрия до появления слабо - розовой окраски, исчезающей в течение 20-30 с. Одновременно проводили контрольное испытание. Содержание аскорбиновой кислоты (x) в миллиграммах на 100 г образца вычисляли по формуле:

$$x = \frac{T \cdot (V_2 - V_1) \cdot V_{эк} \cdot 100 \cdot 100}{m \cdot V_a (100 - \omega)}$$

где T – титр раствора 2,6-дихлорфенолидофенолята натрия по раствору аскорбиновой кислоты мг/см³;

V_1 – объем раствора 2,6-дихлорфенолидофенолята натрия, израсходованный на контрольное титрование, см³;

V_2 – объем раствора 2,6-дихлорфенолидофенолята натрия, израсходованный на титрование экстракта пробы, см³;

$V_{эк}$ – объем экстракта, полученный при экстрагировании аскорбиновой кислоты из навески продукта, см³;

V_a – объем экстракта, используемый для титрования, см³;

m – масса навески продукта, г;

ω – потеря в массе сырья при высушивании, %.

Титр раствора 2,6-дихлорфенолидофенолята натрия устанавливали по стандартному раствору аскорбиновой кислоты в день проведения испытания. Для этого в мерной колбе на 50 см³ растворяли несколько кристалликов (1-1.5 мг) аскорбиновой кислоты в 2%-ной серной кислоте, и доводили этой же кислотой до метки, тщательно перемешивали. В две конические колбы отбирали по 5 см³ приготовленного раствора аскорбиновой кислоты и после добавления кристалликов KJ (около 5 - 10 мг) и 5 капель 1%-ного рас-



твора крахмала и титровали. Одну пробу титровали раствором 2,6-дихлорфенолиндофенолята натрия, другую – раствором $C(1/6 KJO_3)$ 0.001 М. Расчет титра раствора 2,6-дихлорфенолиндофенолята натрия по аскорбиновой кислоте вели по формуле:

$$T = \frac{0,088 \cdot a}{b}$$

где T – количество миллиграммов аскорбиновой кислоты, соответствующее 1 см³ раствора 2,6-дихлорфенолиндофенолята натрия;

0.088 - масса аскорбиновой кислоты, соответствующая 1 см³ 0.001 М раствора йодата калия, мг;

a – объем раствора йодата калия, израсходованного на титрование, см³.

b – объем раствора 2,6-дихлорфенолиндофенола, израсходованного на титрование, см³.

Результаты и обсуждение

Идентификация фенольных соединений в составе имбиря была проведена на основе реакции комплексообразования с раствором хлорида алюминия. На рис. 1. представлены спектры поглощения водноспиртового экстракта имбиря. Как видно, имеются два максимума поглощения при длинах волн 270 и 360 нм, характерные для флавоноидов. При регистрации спектра поглощения экстракта имбиря с 2%-ным раствором $AlCl_3$ наблюдали сдвиг в длинноволновую область спектра до 405 нм, что подтверждает присутствие фенольных соединений в имбире.

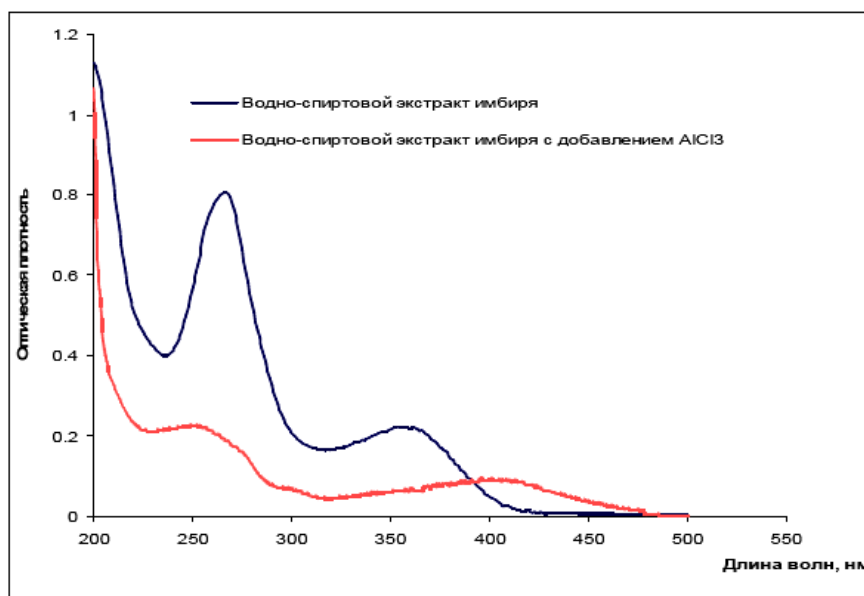


Рис. 1. УФ-спектры водноспиртового экстракта имбиря

Далее проводили ТСХ с целью препаративного выделения и идентификации фенольных соединений. В результате в видимом свете наблюдали 4 пятна коричневого оттенка (рис. 2а). После обработки проявляющим реагентом все пятна приобретали желто-оранжевую окраску. Расчет коэффициентов распределения позволил идентифицировать рутин ($R_f = 0.58$), кварцетина в экстракте имбиря не обнаружено.

Для дальнейшей идентификации биологически активных веществ использовали технику концентрирования раствора с последующей УФ-спектроскопией. На линию “старта” пластики “Силуфол” наносили ряд проб исследуемого экстракта. В результате на хроматограмме получены 2 разделенные полосы (рис. 2б), среднее значение R_f которых совпало с коэффициентами распределения на рис. 2а.

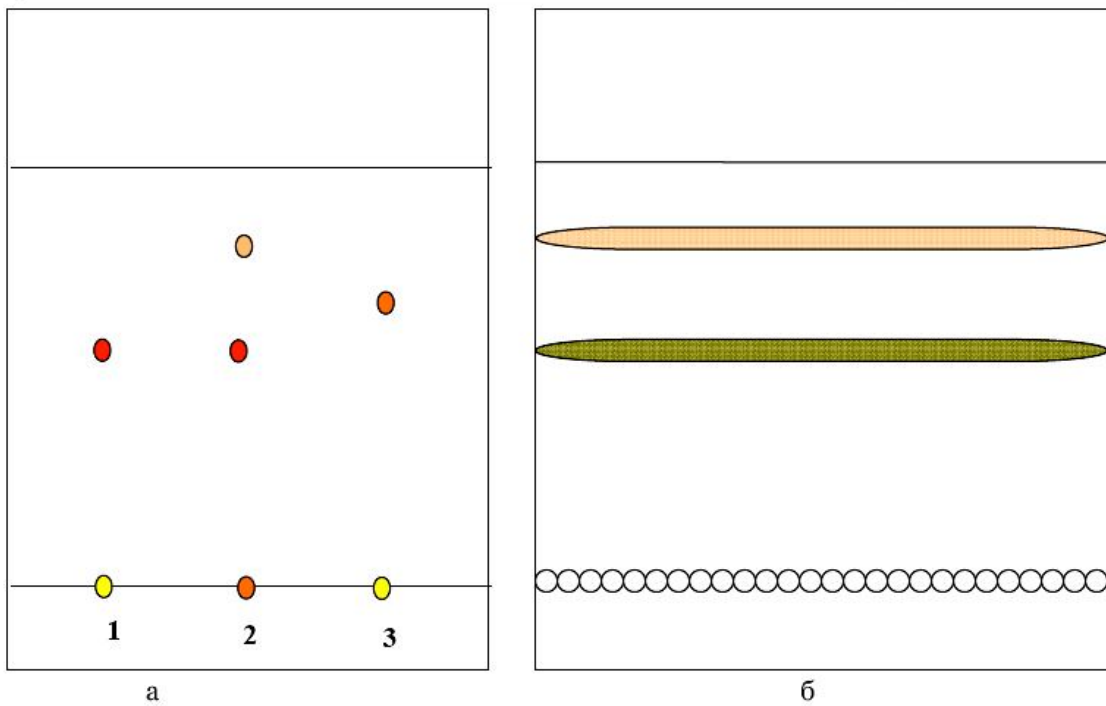


Рис. 2. Хроматограмма ТСХ-анализа водноспиртового экстракта имбиря
1 – стандартный раствор рутина, 2 – водноспиртовой экстракт имбиря,
3 – стандартный раствор кверцетина.

Затем соскабливали поочередно полосы, экстрагировали выделенные вещества спиртом и спектрофотометрировали в диапазоне длин волн 200 – 500 нм. Параллельно снимали спектр стандартного раствора рутина. Как видно, на рис.3 спектры выделенного (экстракт нижней полосы рис.2б) и стандартного рутина идентичны.

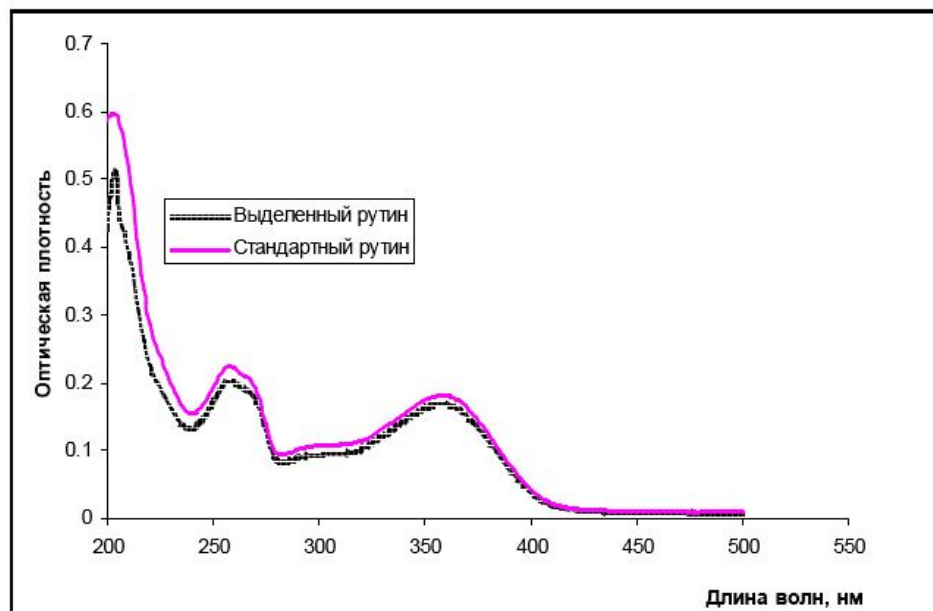


Рис. 3. УФ-спектр рутина

На рис. 4 представлен УФ-спектр соединения, выделенного из верхней полосы (рис 2б), и не идентифицированного по величине R_f . Полученный спектр имеет максимум поглощения при 284 нм, что согласуется с литературными данными для спектров основного компонента имбиря 6-гингерол [6]. Таким образом, с помощью метода ТСХ удалось выделить рутин и 6-гингерол из экстракта имбиря.

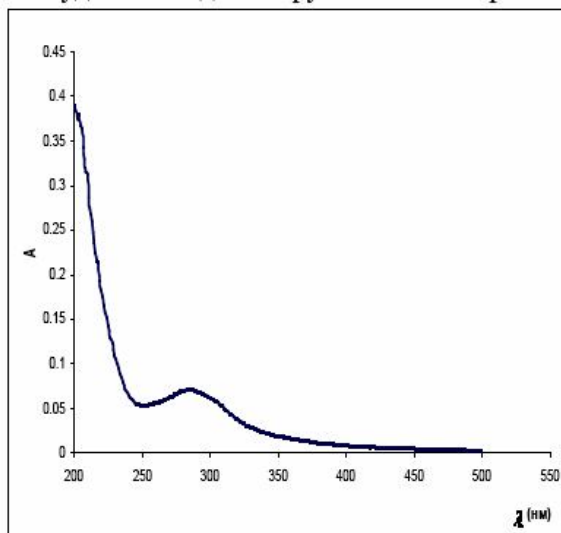
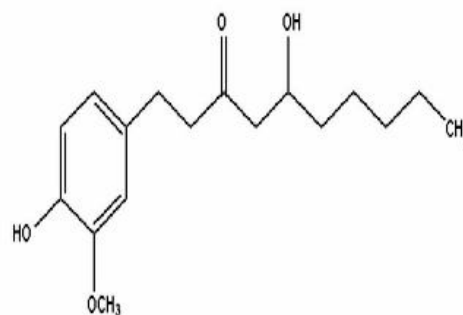


Рис. 4. УФ-спектр 6-гингерола



Структура 6-гингерола [6]

Ценность имбиря определяется не только содержанием фенольных соединений, но и большим количеством в нем витаминов, особенно витамин С, который является мощным антиоксидантом. Присутствие аскорбиновой кислоты в имбире было обнаружено методом ТСХ, проявляющий реагент 1%-ный раствор 2,6-дихлорфенолиндофенолят натрия, $R_f = 0.51$.

Количественно аскорбиновую кислоту в имбире определяли методом объемного титрования раствором 2,6-дихлорфенолиндофенолята натрия. Метод отличается высокой воспроизводимостью и хорошей сходимостью. В таблице 1 представлены метрологические характеристики результатов анализа.

Таблица 1

Содержания аскорбиновой кислоты в имбире ($p = 0.95$)

Va, мл	5		10		15		\bar{x}	S_r	$\bar{x} \pm \Delta x$, мг/100г
	V_2	V_1	V_2	V_1	V_2	V_1			
$V_{ак} = 100\text{мл}$							45.68	1.66	45.68 ± 0.06
Объем титранта, мл	0.33	0.08	0.64	0.16	1.04	0.30			
	0.31	0.01	0.64	0.15	1.01	0.27			
$V_{ср}$	0.32	0.09	0.64	0.16	1.03	0.29			
Содержание аскорбиновой кислоты, мг/100 г	43.82		46.22		47.01		45.68		

Как видно, количество аскорбиновой кислоты в имбире составляет 45.68 ± 0.06 мг/100 г имбиря, что соизмеримо с ее содержанием в апельсинах и лимонах (50 мг/100 г) и в 2 раза превышает ее содержание в яблоках (20 мг/100 г) [7].

Выводы

Таким образом, методами спектрофотометрии и тонкослойной хроматографии исследован качественный состав биологически активных веществ имбиря. Установлено, что в его состав входят фенольные соединения, обладающие высокой био-



химической и физиологической активностью: рутин и 6-гингерол. Содержание аскорбиновой кислоты составляет 45.68 мг/100 г имбиря, что в 2 раза превышает соответствующее значение для яблок и соизмеримо с содержанием аскорбиновой кислоты в цитрусовых.

Список литературы

1. Самченко О.Н., Чижикова О.Г. использование пряностей семейства Имбирные в качестве источника биологических активных веществ в изделиях из муки // Вестник ТГЭУ. – 2008. № 4. – С. 67-72.
2. Шретер А.И., Валентинов Б.Г., Наумова Э.М. Природное сырьё китайской медицины. Т. 1. – М., 2000. – 525 с.
3. Турова Е.Н. и др. Применение электрогенерированного брома для оценки интегральной антиоксидантной способности лекарственного растительного сырья и препаратов на его основе // Журнал аналитической химии. – 2002. – № 6. – Т. 57. – с. 666-670.
4. Бекетов Е.В, Абрамов А.А и др. Идентификация и количественная оценка флавоноидов в плодах черемухиобыкновенной/ Вестник МГУ. 2005. № 4. Т 46. – С. 259-262.
5. ГОСТ 24556-89. Продукты переработки плодов и овощей. Методы определения витамина С. – 1990.
6. Sujay Rai, KakaliMukherjee, MainakMal, AtulWahile, Bishnu Pada Saha, Pulok K.Mukherjee. Determination of 6-gingerol in ginger (*Zingiber officinale*) using high performance thin-layer chromatography // School of Natural Product Studies, Department of Pharmaceutical Technology, Jadavpur University, Kolkata, India – 2006. – P. 2292-2295.
7. Энциклопедия витаминов. <http://www.vitamins.ru/encyclopedia/info.aspx?id=13>.

IDENTIFICATION OF BIOLOGICALLY ACTIVE SUBSTANCES IN GINGER (ZINGIBER OFFICINALE) WITH INSTRUMENTAL METHODS

**N.G Gabruk,
Le Van Thuan**

Belgorod State University
Pobedy Str., 85, Belgorod,
308015, Russia
E-mail: Gabruk@bsu.edu.ru
thuansphoa27@yahoo.com

In this paper the qualitative composition of biologically active compounds of ginger is studied with spectrophotometry and chromatography methods. The result shows that ginger consists of phenolic compounds with high antioxidant activity: rutin and 6-gingerol. We found that ginger contains ascorbic acid with the amount of ginger 45.68 mg/100g; this value is proportional to citrus plants.

Keywords: Ginger, rutin, 6-gingerol, spectrophotometry, thin layer chromatography.