

**ĐỊNH LƯỢNG ĐỒNG THỜI 6-SHOGAOL, 6-GINGEROL,  
8-GINGEROL, 10-GINGEROL TRONG GỪNG (*Zingiber officinale* Rosc.)  
BẰNG PHƯƠNG PHÁP SẮC KÝ LỎNG HIỆU NĂNG CAO**

*Hồ Bá Ngọc Minh<sup>1</sup>, Nguyễn Trọng Điệp<sup>1</sup>, Phạm Văn Hiến<sup>1</sup>  
Ngô Thị Tuyết Mai<sup>1</sup>, Phạm Kỳ Anh<sup>2</sup>, Vũ Bình Dương<sup>1\*</sup>*

**Tóm tắt**

**Mục tiêu:** Xây dựng phương pháp định lượng đồng thời 6-shogaol, 6-gingerol, 8-gingerol, 10-gingerol trong gừng bằng phương pháp sắc ký lỏng hiệu năng cao (high-performance liquid chromatography - HPLC) ứng dụng trong kiểm nghiệm nguyên liệu và thành phẩm. **Phương pháp nghiên cứu:** Khảo sát, lựa chọn điều kiện sắc ký. Thẩm định phương pháp phân tích theo hướng dẫn chung của ICH (International Conference on Harmonisation). **Kết quả:** Nghiên cứu đã lựa chọn được các điều kiện sắc ký gồm cột InertSustain AQ - C18 (150 x 4,6mm, 5µm), detector UV bước sóng 280nm; hệ dung môi pha động: Acetonitril (C) và acid acetic 0,1% (A) chạy theo chương trình gradient (0 - 10 phút, C 50%; 10 - 40 phút, C 50% - 90%; 40 - 45 phút, C 90% - 100%; 45 - 50 phút, C 100% - 50%); thể tích bơm mẫu là 10µL; tốc độ dòng pha động là 1,0 mL/phút. Thẩm định phương pháp sắc ký về tính tương thích hệ thống, độ đặc hiệu, độ chọn lọc, độ đúng và độ chính xác. **Kết luận:** Đã xây dựng được phương pháp định lượng đồng thời 6-shogaol, 6-gingerol, 8-gingerol, 10-gingerol. Kết quả thẩm định cho thấy, phương pháp phân tích đáp ứng yêu cầu theo hướng dẫn của ICH.

**Từ khoá:** 6-shogaol; 6-gingerol; 8-gingerol; 10-gingerol; Sắc ký lỏng hiệu năng cao.

**SIMULTANEOUS DETERMINATION METHOD OF 6-SHOGAOL,  
6-GINGEROL, 8-GINGEROL, AND 10-GINGEROL  
BY HIGH-PERFORMANCE LIQUID CHROMATOGRAPHY**

**Abstract**

**Objectives:** To develop a method to simultaneously quantify 6-shogaol, 6-gingerol, 8-gingerol, 10-gingerol in ginger using high-performance liquid

<sup>1</sup>Học viện Quân y

<sup>2</sup>Đại học Đại Nam

\*Tác giả liên hệ: Vũ Bình Dương (vbduong2978@gmail.com)

Ngày nhận bài: 18/8/2023

Ngày được chấp nhận đăng: 25/5/2023

<http://doi.org/10.56535/jmpm.v48.463>

chromatography - HPLC for application in raw material testing and finished products. **Methods:** The validation was carried out in accordance with ICH guidelines. **Results:** The optimal condition of parameters was: InertSustain AQ - C<sub>18</sub> column (150 x 4.6 mm, 5 $\mu$ m); injection volume (10  $\mu$ L); the mixture of ACN (C) and acetic acid 0.1% (A) as mobile phase in gradient elution mode: (0 - 10 min, C 50%; 10 - 40 min, C 50% - 90%; 40 - 45 min, C 90% - 100%; 45 - 50 min, C 100% - 50%) with a flow rate of 1 mL/minute); detection at 280nm. The method was validated with the following criteria: System suitability, selectivity, linearity, precision, accuracy, LOD, and LOQ. **Conclusion:** The simultaneous determination of 6-shogaol, 6-gingerol, 8-gingerol, and 10-gingerol was fully validated in accordance with ICH.

**Keywords:** 6-shogaol; 6-gingerol; 8-gingerol; 10-gingerol; High-performance liquid chromatography.

## ĐẶT VẤN ĐỀ

Gừng (*Zingiber officinale* Rosc.) là loại cây trồng mang lại giá trị kinh tế cao cho ngành nông nghiệp Việt Nam, được sử dụng như một gia vị trong chế biến các món ăn, đồng thời cũng là một trong các vị thuốc của y học cổ truyền (YHCT) có tác dụng ôn trung tán hàn để chữa một số bệnh như đau bụng, chân tay lạnh...[1, 2]. Trong những năm gần đây, gừng đã được chứng minh có các hoạt tính sinh học như: Chống oxy hóa, chống viêm, kháng khuẩn và chống ung thư...[3], nhờ vào các thành phần quan trọng như: 6-shogaol, 6-gingerol, 8-gingerol, 10-gingerol,...đem lại nhiều tác dụng có hiệu quả trong điều trị bệnh [4].

Để đánh giá chất lượng các sản phẩm có nguồn gốc từ gừng trên thị trường cần có phương pháp định lượng

phù hợp với điều kiện thực tế trong nước, dễ triển khai. Do đó, nghiên cứu này được thực hiện nhằm: *Xây dựng và thẩm định phương pháp định lượng đồng thời 6-shogaol, 6-gingerol, 8-gingerol, 10-gingerol bằng sắc ký lỏng hiệu năng cao.*

## NGUYÊN VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### 1. Nguyên vật liệu, hóa chất và thiết bị

- Chất chuẩn 6-shogaol (Số lô: CFN99531), 6-gingerol (Số lô: CFN99931), 8-gingerol (Số lô: CFN99131), 10-gingerol (Số lô: CFN99132); acetonitril, methanol, acid acetic băng (Merck - Đức), nước cất, methanol, acetonitril đạt tiêu chuẩn HPLC, và một số hóa chất dung môi khác đạt tiêu chuẩn tinh khiết phân tích.

- Hệ thống HPLC Waters e2695 (Mỹ); Cột AQ - C18 (150 x 4,6mm, 5 $\mu$ m); Cân phân tích Mettler có độ chính xác 0,1mg (Mettler - Đức).

- Các dụng cụ thí nghiệm khác: Chày cối sứ, bình định mức, cốc có mỏ, rây và các dụng cụ khác... đạt tiêu chuẩn dùng cho phòng thí nghiệm phân tích.

## 2. Phương pháp nghiên cứu

### \* Chuẩn bị mẫu:

Mẫu thử: Cân chính xác khoảng 1,0g gừng khô thái lát, thêm 40mL MeOH, chiết siêu âm 2 giờ ở 40°C, ly tâm lấy dịch chiết. Cho toàn bộ dịch chiết vào bình định mức 50mL. Bổ sung vừa đủ thể tích bằng MeOH, lắc siêu âm 30 phút, lọc qua màng 0,45 $\mu$ m, đem phân tích HPLC.

Mẫu chuẩn: Cân chính xác khoảng 20mg 6-gingerol, 20mg 8-gingerol, 20mg 6-shogaol, 20mg 10-gingerol hòa tan trong MeOH để được các dung dịch chuẩn gốc có nồng độ là 2000  $\mu$ g/mL. Từ dung dịch này chuẩn bị các dãy chuẩn hỗn hợp 4 chất có nồng độ khác nhau 2,5  $\mu$ g/mL; 5  $\mu$ g/mL; 12,5  $\mu$ g/mL; 25  $\mu$ g/mL; 50  $\mu$ g/mL; 100  $\mu$ g/mL và 250  $\mu$ g/mL.

Mẫu trắng: MeOH

### \* Lựa chọn điều kiện sắc ký:

Các thông số cho quá trình sắc ký bao gồm: cột AQ - C18 (150 x 4,6mm,

5 $\mu$ m), detector UV, bước sóng 280nm; nhiệt độ cột là 30°C; thể tích bơm mẫu 10 $\mu$ L; tốc độ dòng pha động 1,0 mL/phút. [4]

Tiến hành khảo sát các hệ dung môi pha động sau:

- Hệ 1 (CT1): ACN (C): Acid acetic 1% (A) (60:40) chạy đẳng dòng 50 phút.

- Hệ 2 (CT2): ACN (C): Acid acetic 0,1% (A) chạy theo chương trình gradient (0 - 10 phút, C 40%; 10 - 40 phút, C 40%  $\rightarrow$  90%; 40 - 45 phút, C 90%  $\rightarrow$  100%; 45 - 50 phút, C 100%  $\rightarrow$  40%).

- Hệ 3 (CT3): ACN (C) và acid acetic 0,1% (A) chạy theo chương trình gradient (0 - 10 phút, C 50%; 10 - 40 phút, C 50%  $\rightarrow$  90%; 40 - 45 phút, C 90%  $\rightarrow$  100%; 45 - 50 phút, C 100%  $\rightarrow$  50%).

### \* Thẩm định phương pháp phân tích:

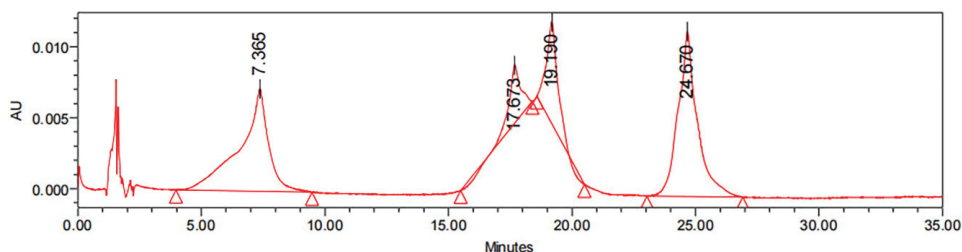
Phương pháp phân tích được thẩm định theo hướng dẫn chung của ICH về thẩm định phương pháp phân tích [5] gồm: Tính tương thích hệ thống, chọn lọc - đặc hiệu; khoảng nồng độ tuyến tính; độ chính xác; độ đúng; giới hạn phát hiện (LOD) và giới hạn định lượng (LOQ).

\* Xử lý số liệu: Số liệu được phân tích thống kê trên phần mềm Microsoft Excel 365.

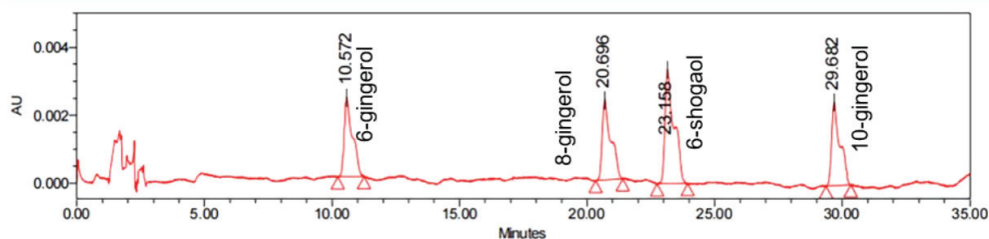
## KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

### 1. Kết quả lựa chọn điều kiện sắc ký

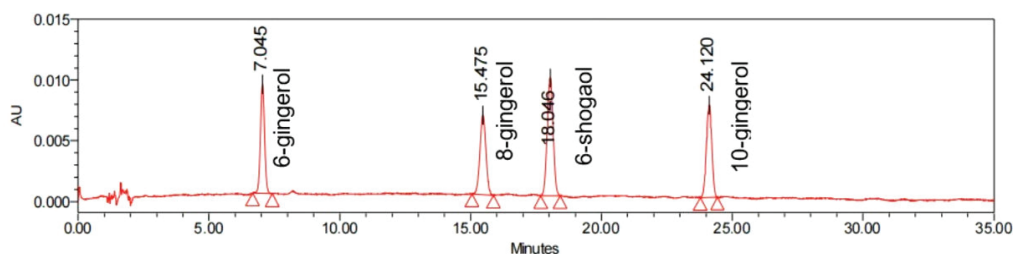
Tiến hành khảo sát các chương trình đã lựa chọn với mẫu có nồng độ từng chất là 25 µg/mL.



Hình 1. Sắc ký đồ CT1.



Hình 2. Sắc ký đồ CT2.



Hình 3. Sắc ký đồ CT3.

Kết quả cho thấy, ở sắc ký đồ (SKĐ) CT1, pic của các chất phân tích chưa cân đối, chưa tách nhau hoàn toàn; ở SKĐ CT2, pic tách nhau hoàn toàn, tuy nhiên pic chưa cân đối, chân pic bị kéo đuôi; ở SKĐ CT3, pic tách nhau hoàn toàn, hình ảnh pic cân đối, sắc nét, thời gian xuất hiện pic ngắn, hệ số bất đối xứng pic xấp xỉ bằng 1. Từ kết quả này, chúng tôi lựa chọn điều kiện CT3 để tiến hành thẩm định phương pháp định lượng.

## 2. Kết quả thẩm định phương pháp định lượng

\* *Tính tương thích hệ thống:*

Tiêm 6 lần dung dịch chuẩn hỗn hợp 6-gingerol, 8-gingerol, 6-shogaol, 10-gingerol nồng độ 25 µg/mL vào hệ thống HPLC, tiến hành sắc ký theo điều kiện đã xây dựng. Kết quả được trình bày ở Bảng 1.

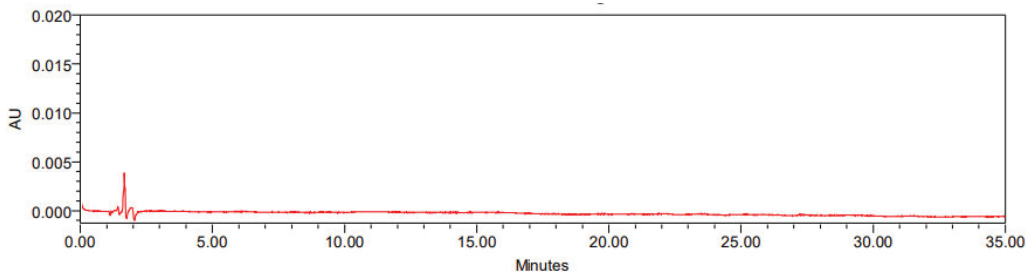
**Bảng 1.** Kết quả khảo sát tính tương thích hệ thống của phương pháp.

	6-gingerol	8-gingerol	6-shogaol	10-gingerol
Thời gian lưu (phút)	7,002 ± 0,110	15,363 ± 0,112	17,919 ± 0,088	24,006 ± 0,059
Diện tích pic (µAU.s)	103710 ± 271,872	106757 ± 348,459	152052 ± 870,554	108366 ± 348,906
Số đĩa lý thuyết	8531 ± 112,747	18464 ± 214,134	28398 ± 172,640	61441 ± 583,342
Hệ số kéo đuôi (As)	1,054 ± 0,014	1,015 ± 0,014	1,009 ± 0,011	1,005 ± 0,008

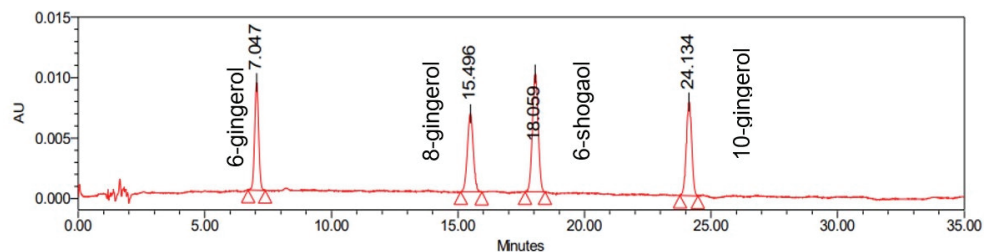
Kết quả cho thấy độ lệch chuẩn tương đối RSD % về thời gian lưu, diện tích pic, số đĩa lý thuyết và hệ số kéo đuôi của 6-gingerol, 8-gingerol, 6-shogaol, 10-gingerol đều nhỏ hơn 2%. Hệ số kéo đuôi đều nằm trong khoảng chấp nhận  $0,9 \leq As \leq 2,0$ ; số đĩa lý thuyết của các chất  $\geq 4000$  đĩa. Như vậy, phương pháp phù hợp với hệ thống phân tích.

\* *Tính đặc hiệu, chọn lọc:*

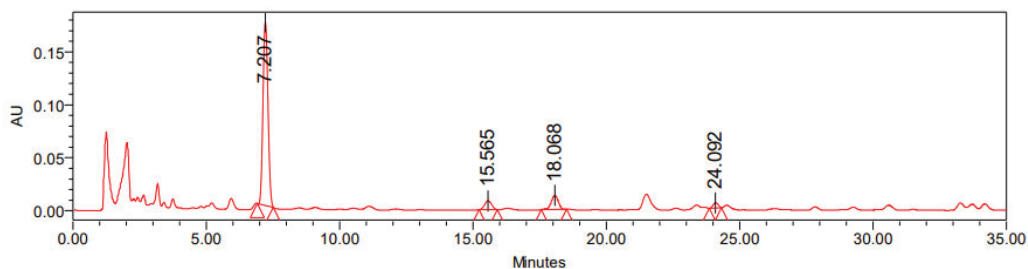
Phân tích đồng thời mẫu chuẩn, mẫu thử, mẫu trắng trong cùng điều kiện sắc ký, kết quả thể hiện ở hình 4, hình 5 và hình 6.



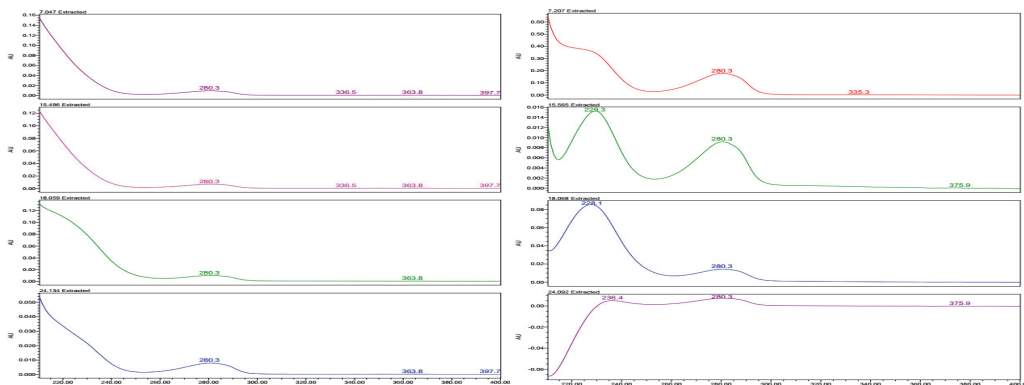
**Hình 4.** Sắc ký đồ mẫu trắng.



Hình 5. Sắc ký đồ mẫu chuẩn.



Hình 6. Sắc ký đồ mẫu thử.



Hình 7. Phổ UV mẫu chuẩn và mẫu thử.

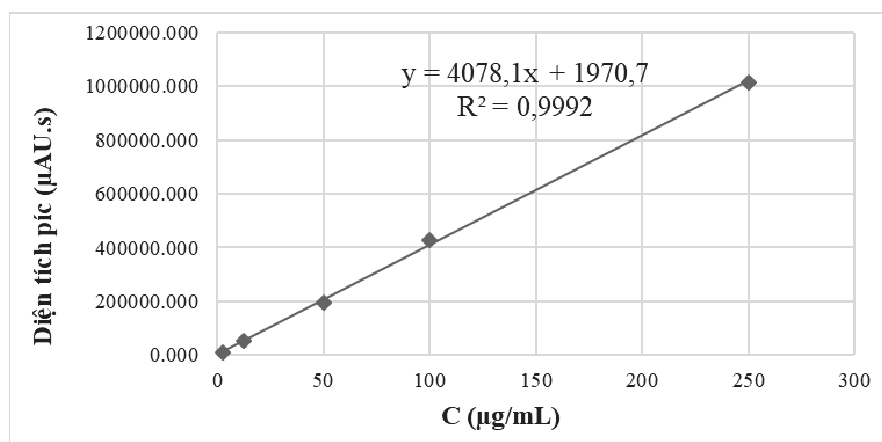
Thời gian lưu tương ứng của pic 6-gingerol, 8-gingerol, 6-shogaol và 10-gingerol trên mẫu chuẩn và mẫu thử như nhau. Mẫu trắng không xuất hiện pic ở trong khoảng thời gian lưu tương ứng với thời gian lưu pic của chất phân tích. Pic của 6-gingerol, 8-gingerol, 6-shogaol, 10-gingerol trên mẫu thử và mẫu chuẩn là cân đối, sắc nét, độ rộng chân pic nhỏ, phổ UV của mẫu chuẩn và mẫu thử cho thấy các pic tương ứng có cùng phổ UV. Kết quả cho thấy, phương pháp này đảm bảo độ chọn lọc và đặc hiệu.

\* *Khoảng nồng độ tuyến tính:*

Kết quả khảo sát sự phụ thuộc tuyến tính giữa nồng độ với diện tích pic của 6-gingerol, 8-gingerol, 6-shogaol và 10-gingerol với khoảng nồng độ làm việc từ 2,5 µg/mL đến 250 µg/mL được thể hiện ở các bảng 2, bảng 3, bảng 4, bảng 5 và hình 7, hình 8, hình 9, hình 10, hình 11.

**Bảng 2.** Kết quả khảo sát sự phụ thuộc của Spic và nồng độ của 6-gingerol.

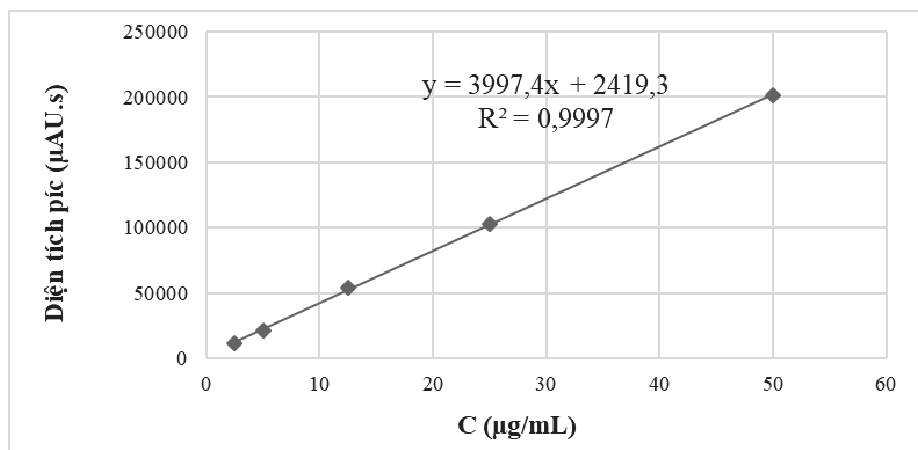
Mẫu	1	2	3	4	5
C (µg/mL)	2,45	12,25	49	98	245
Diện tích pic trung bình (µAU.s)	10749	50600	195830	429222	1015848
Phương trình hồi quy	$y = 4078,1x + 1970,7$ ( $R^2 = 0,9992$ )				



**Hình 8.** Mối quan hệ tuyến tính của diện tích và nồng độ của 6-gingerol.

**Bảng 3.** Kết quả khảo sát sự phụ thuộc của diện tích pic và nồng độ của 8-gingerol.

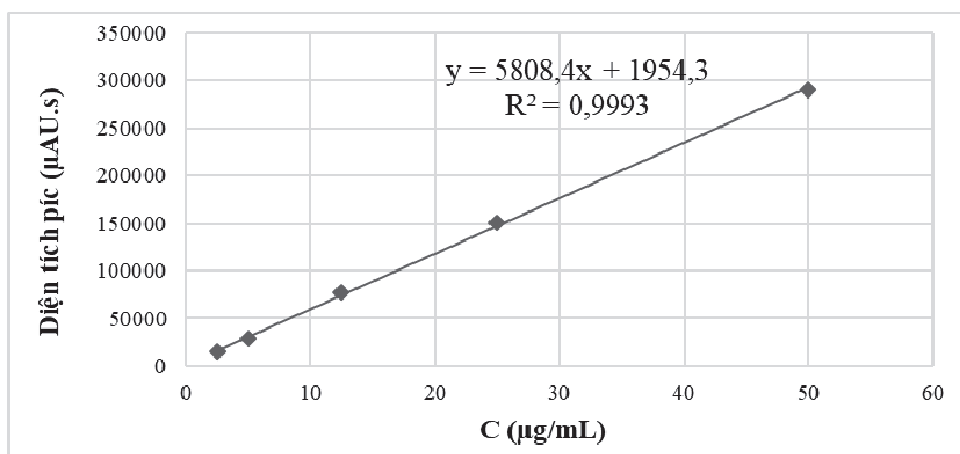
Mẫu	1	2	3	4	5
C (µg/mL)	2,45	4,9	12,25	24,5	49
Diện tích pic trung bình (µAU.s)	11473	21336	54287	103219	201539
Phương trình hồi quy	$y = 3997,4x + 2419,3$ ( $R^2 = 0,9997$ )				



Hình 9. Mối quan hệ tuyến tính của diện tích và nồng độ của 8-gingerol.

Bảng 4. Kết quả khảo sát sự phụ thuộc của diện tích pic và nồng độ của 6-shogaol.

Mẫu	1	2	3	4	5
C (μg/mL)	2,45	4,9	12,25	24,5	49
Diện tích pic trung bình (μAU.s)	14864	28389	77353	150728	290234
Phương trình hồi quy	$y = 5808,4x + 1954,3$ ( $R^2 = 0,9993$ )				

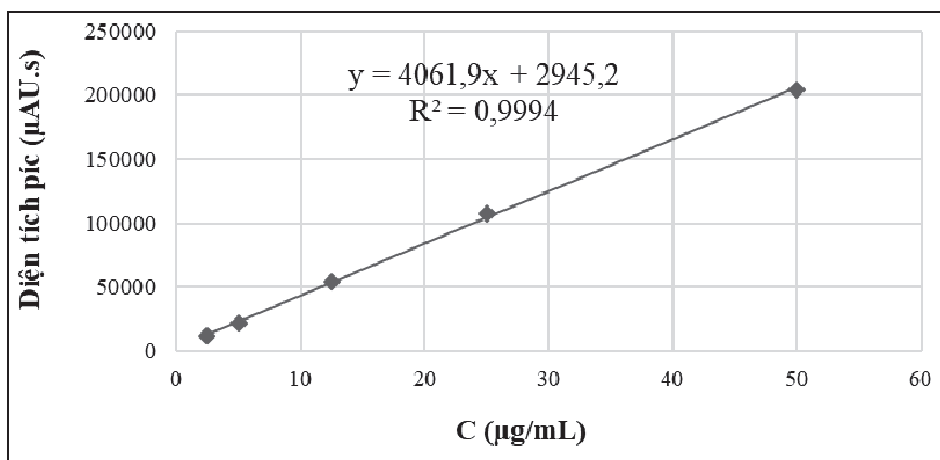


Hình 10. Mối quan hệ tuyến tính của diện tích và nồng độ của 6-shogaol.



**Bảng 5.** Kết quả khảo sát sự phụ thuộc của Spíc và nồng độ của 10-gingerol.

Mẫu	1	2	3	4	5
C ( $\mu\text{g/mL}$ )	2,45	4,9	12,25	24,5	49
Diện tích pic trung bình ( $\mu\text{AU.s}$ )	12131	22019	54378	107567	204507
Phương trình hồi quy	$y = 4061,9x + 2945,2$ ( $R^2 = 0,9994$ )				



**Hình 11.** Mối quan hệ tuyến tính của diện tích và nồng độ của 10-gingerol.

Kết quả cho thấy trong khoảng nồng độ đã khảo sát, phương pháp định lượng có độ tuyến tính cao giữa đáp ứng diện tích pic và nồng độ dung dịch, sự phụ thuộc được thể hiện qua các phương trình hồi quy tuyến tính:  $y = 4078,1x + 1970,7$  ( $R^2 = 0,9992$ ) với 6-gingerol;  $y = 3997,4x + 2419,3$  ( $R^2 = 0,9997$ ) với 8-gingerol;  $y = 4061,9x + 2945,2$  ( $R^2 = 0,9994$ ) với 10-gingerol;  $y = 5808,4x + 1954,3$  ( $R^2 = 0,9993$ ) với 6-shogaol.

*\* Độ chính xác:*

Kết quả khảo sát độ chính xác trung gian của 6-gingerol, 8-gingerol, 10-gingerol và 6-shogaol qua các ngày được thể hiện lần lượt ở các bảng 6, bảng 7, bảng 8 và bảng 9 cho thấy độ lệch chuẩn tương đối (RSD %) đều  $< 2\%$ , đạt yêu cầu về chỉ tiêu độ chính xác.

**Bảng 6.** Kết quả đánh giá độ chính xác trong ngày và khác ngày của 6-gingerol.

Nồng độ mẫu phân tích	Ngày 1		Ngày 2		Ngày 3	
	Diện tích pic	Nồng độ ngoại suy từ đường chuẩn	Diện tích pic	Nồng độ ngoại suy từ đường chuẩn	Diện tích pic	Nồng độ ngoại suy từ đường chuẩn
LQC (5 µg/mL)	20141	4,46	20420	4,52	20103	4,45
	19918	4,40	20247	4,48	20360	4,51
	20184	4,47	20439	4,53	20425	4,53
Giá trị thống kê theo từng ngày	$\bar{X} = 4,44$ SD = 0,04 RSD = 0,79%		$\bar{X} = 4,51$ SD = 0,03 RSD = 0,58%		$\bar{X} = 4,49$ SD = 0,04 RSD = 0,93%	
Giá trị thống kê cả 3 ngày	$\bar{X} = 4,48$ ; SD = 0,03 ; RSD = 0,76%					
MQC (12,5 µg/mL)	50588	11,92	50603	11,93	50893	12,00
	50736	11,96	50635	11,93	50886	11,99
	50842	11,98	50664	11,94	50788	11,97
Giá trị thống kê theo từng ngày	$\bar{X} = 11,95$ SD = 0,03 RSD = 0,26%		$\bar{X} = 11,93$ SD = 0,01 RSD = 0,06%		$\bar{X} = 11,99$ SD = 0,01 RSD = 0,12%	
Giá trị thống kê cả 3 ngày	$\bar{X} = 11,96$ ; SD = 0,02; RSD = 0,15%					
HQC (25 µg/mL)	105317	25,34	105064	25,28	105317	25,34
	105386	25,36	105060	25,28	105184	25,31
	105230	25,32	105020	25,27	105680	25,43
Giá trị thống kê theo từng ngày	$\bar{X} = 25,34$ SD = 0,02 RSD = 0,08%		$\bar{X} = 25,28$ SD = 0,01 RSD = 0,02%		$\bar{X} = 25,36$ SD = 0,06 RSD = 0,25%	
Giá trị thống kê cả 3 ngày	$\bar{X} = 25,33$ ; SD = 0,03 ; RSD = 0,12%					

**Bảng 7.** Kết quả đánh giá độ chính xác trong ngày và khác ngày của 8-gingerol.

Nồng độ mẫu phân tích	Ngày 1		Ngày 2		Ngày 3	
	Diện tích pic	Nồng độ ngoại suy từ đường chuẩn	Diện tích pic	Nồng độ ngoại suy từ đường chuẩn	Diện tích pic	Nồng độ ngoại suy từ đường chuẩn
HQC (5 µg/mL)	21606	4,80	21227	4,70	21120	4,68
	21484	4,77	21341	4,73	21549	4,79
	21563	4,79	21469	4,77	21248	4,71
Giá trị thống kê theo từng ngày	$\bar{X} = 4,79$ SD = 0,02 RSD = 0,32%		$\bar{X} = 4,73$ SD = 0,03 RSD = 0,64%		$\bar{X} = 4,72$ SD = 0,06 RSD = 1,17%	
Giá trị thống kê cả 3 ngày	$\bar{X} = 4,75$ ; SD = 0,03; RSD = 0,71%					
MQC (12,5 µg/mL)	53850	12,87	54043	12,91	54043	12,91
	54061	12,92	54104	12,93	54015	12,91
	54160	12,94	54209	12,96	54056	12,92
Giá trị thống kê theo từng ngày	$\bar{X} = 12,91$ SD = 0,04 RSD = 0,31%		$\bar{X} = 12,93$ SD = 0,02 RSD = 0,16%		$\bar{X} = 12,91$ SD = 0,01 RSD = 0,04%	
Giá trị thống kê cả 3 ngày	$\bar{X} = 12,92$ ; SD = 0,02; RSD = 0,17%					
HQC (25 µg/mL)	103906	25,39	103859	25,38	103353	25,25
	103865	25,38	103571	25,30	103413	25,26
	103551	25,30	103748	25,35	103512	25,29
Giá trị thống kê theo từng ngày	$\bar{X} = 25,36$ SD = 0,05 RSD = 0,19%		$\bar{X} = 25,34$ SD = 0,04 RSD = 0,14%		$\bar{X} = 25,27$ SD = 0,02 RSD = 0,08%	
Giá trị thống kê cả 3 ngày	$\bar{X} = 25,32$ ; SD = 0,04; RSD = 0,14%					

**Bảng 8.** Kết quả đánh giá độ chính xác trong ngày và khác ngày của 6-shogaol.

Nồng độ mẫu phân tích	Ngày 1		Ngày 2		Ngày 3	
	Diện tích pic	Nồng độ ngoại suy từ đường chuẩn	Diện tích pic	Nồng độ ngoại suy từ đường chuẩn	Diện tích pic	Nồng độ ngoại suy từ đường chuẩn
LQC (5 µg/mL)	29469	4,74	29319	4,71	29694	4,78
	29749	4,79	29234	4,70	29638	4,77
	29123	4,68	29424	4,73	29626	4,76
Giá trị thống kê theo từng ngày	$\bar{X} = 4,73$ SD = 0,05 RSD = 1,14%		$\bar{X} = 4,71$ SD = 0,02 RSD = 0,35%		$\bar{X} = 4,58$ SD = 0,01 RSD = 0,13%	
Giá trị thống kê cả 3 ngày	$\bar{X} = 4,74$ ; SD = 0,03; RSD = 0,54%					
MQC (12,5 µg/mL)	77083	12,93	77034	12,93	77081	12,93
	77117	12,94	76800	12,89	77013	12,92
	77180	12,95	77043	12,93	77066	12,93
Giá trị thống kê theo từng ngày	$\bar{X} = 12,94$ SD = 0,01 RSD = 0,07%		$\bar{X} = 12,91$ SD = 0,02 RSD = 0,18%		$\bar{X} = 12,93$ SD = 0,01 RSD = 0,05%	
Giá trị thống kê cả 3 ngày	$\bar{X} = 12,93$ ; SD = 0,01; RSD = 0,10%					
HQC (25 µg/mL)	150908	25,64	150893	25,64	150650	25,60
	150642	25,60	150874	25,64	150796	25,63
	150389	25,56	150801	25,63	150427	25,56
Giá trị thống kê theo từng ngày	$\bar{X} = 25,60$ SD = 0,04 RSD = 0,17%		$\bar{X} = 25,64$ SD = 0,01 RSD = 0,03%		$\bar{X} = 25,60$ SD = 0,03 RSD = 0,12%	
Giá trị thống kê cả 3 ngày	$\bar{X} = 25,61$ ; SD = 0,03; RSD = 0,11%					

**Bảng 9.** Kết quả đánh giá độ chính xác trong ngày và khác ngày của 10-gingerol.

Nồng độ mẫu phân tích	Ngày 1		Ngày 2		Ngày 3	
	Diện tích pic	Nồng độ ngoại suy từ đường chuẩn	Diện tích pic	Nồng độ ngoại suy từ đường chuẩn	Diện tích pic	Nồng độ ngoại suy từ đường chuẩn
LQC (5 µg/mL)	22446	4,80	22635	4,85	22030	4,70
	22322	4,77	22329	4,77	22140	4,73
	22488	4,81	22623	4,84	22069	4,71
Giá trị thống kê theo từng ngày	$\bar{X} = 4,79$		$\bar{X} = 4,82$		$\bar{X} = 4,71$	
	SD = 0,02		SD = 0,04		SD = 0,01	
	RSD = 0,44%		RSD = 0,88%		RSD = 0,29%	
Giá trị thống kê cả 3 ngày	$\bar{X} = 4,78$ ; SD = 0,03; RSD = 0,54%					
MQC (12,5 µg/mL)	55065	12,83	55093	12,84	55064	12,83
	55510	12,94	55079	12,83	55210	12,87
	55204	12,87	55124	12,85	55066	12,83
Giá trị thống kê theo từng ngày	$\bar{X} = 12,88$		$\bar{X} = 12,84$		$\bar{X} = 12,84$	
	SD = 0,06		SD = 0,01		SD = 0,02	
	RSD = 0,44%		RSD = 0,04%		RSD = 0,16%	
Giá trị thống kê cả 3 ngày	$\bar{X} = 12,85$ ; SD = 0,03; RSD = 0,21%					
HQC (25 µg/mL)	108770	26,05	108512	25,99	108165	25,90
	108209	25,91	108209	25,91	108122	25,89
	108468	25,98	108505	25,99	108193	25,91
Giá trị thống kê theo từng ngày	$\bar{X} = 25,98$		$\bar{X} = 25,96$		$\bar{X} = 25,90$	
	SD = 0,07		SD = 0,04		SD = 0,01	
	RSD = 0,27%		RSD = 0,16%		RSD = 0,03%	
Giá trị thống kê cả 3 ngày	$\bar{X} = 25,95$ ; SD = 0,04; RSD = 0,15%					

\* *Độ đúng:*

Độ đúng của phương pháp được thực hiện theo phương pháp thêm chuẩn. Chiết khoảng 1,0g mẫu gừng khô theo mục chuẩn bị mẫu thử của phương pháp nghiên cứu, thêm các lượng chuẩn thích hợp (80%, 100%, 120%) đã biết nồng độ so với mẫu thử. Phân tích sắc ký theo điều kiện đã chọn được, dựa vào đường hồi quy tuyến tính, diện tích pic của mẫu thử và mẫu thử thêm chuẩn để ngoại suy lượng thêm vào ban đầu. Độ thu hồi hoạt chất được xác định dựa vào tỷ lệ % lượng tìm thấy đường chuẩn so với lượng thực tế thêm vào. Kết quả khảo sát độ đúng của phương pháp với các mẫu phân tích được thể hiện ở bảng 10.

**Bảng 10.** Kết quả khảo sát độ đúng của phương pháp.

Lượng thêm vào Độ thu hồi	LQC	MQC	HQC
	6-gingerol ( $\bar{X} \pm SD, \%$ )	99,27 ± 1,44 (RSD = 1,45%)	98,29 ± 0,79 (RSD = 0,80%)
8-gingerol ( $\bar{X} \pm SD, \%$ )	99,32 ± 0,11 (RSD = 0,11%)	97,32 ± 1,38 (RSD = 1,42%)	98,13 ± 0,99 (RSD = 1,01%)
6-shogaol ( $\bar{X} \pm SD, \%$ )	99,04 ± 1,23 (RSD = 1,25%)	98,59 ± 0,51 (RSD = 0,52%)	102,06 ± 0,24 (RSD = 0,23%)
10-gingerol ( $\bar{X} \pm SD, \%$ )	95,74 ± 0,36 (RSD = 0,38%)	99,36 ± 0,78 (RSD = 0,79%)	100,44 ± 0,53 (RSD = 0,53%)

Kết quả cho thấy, phương pháp phân tích có độ thu hồi của 6,8,10-gingerol và 6-shogaol từ 95,74 - 102,06% với giá trị độ lệch chuẩn tương đối (RSD %) < 2%. Như vậy, phương pháp phân tích đạt yêu cầu về độ đúng.

\* *Giới hạn phát hiện, giới hạn định lượng:*

Dựa vào độ độ nhiễu đường nền tại thời gian lưu tương ứng với thời gian lưu của chất phân tích, ta tính được LOD và LOQ theo công thức  $k \times SD/\delta$  ( $k = 3,3$  cho LOD và 10 cho LOQ).

**Bảng 11.** Kết quả khảo sát LOD và LOQ của các chất phân tích.

	<b>6-gingerol</b>	<b>8-gingerol</b>	<b>6-shogaol</b>	<b>10-gingerol</b>
SD	2,828	2,828	1,414	4,243
Hệ số góc ( $\delta$ )	4078,26	3980,83	5779,90	4062,85
LOD	0,002	0,002	0,001	0,003
LOQ	0,007	0,003	0,002	0,010

Kết quả cho thấy rằng giới hạn phát hiện và giới hạn định lượng của 6-gingerol lần lượt là 0,002 và 0,007  $\mu\text{g/mL}$ ; của 8-gingerol lần lượt là 0,002 và 0,003  $\mu\text{g/mL}$ ; của 6-shogaol lần lượt là 0,001 và 0,002  $\mu\text{g/mL}$ ; và của 10-gingerol lần lượt là 0,003 và 0,010  $\mu\text{g/mL}$ .

Như vậy, phương pháp phân tích định lượng đồng thời 6-shogaol, 6-gingerol, 8-gingerol, 10-gingerol bằng HPLC đảm bảo tính tương thích hệ thống, độ đặc hiệu, độ chọn lọc, độ đúng và độ chính xác cao, các kết quả đánh giá đều nằm trong giới hạn của ICH [5]. Do đó, phương pháp đã xây dựng và thẩm định này phù hợp cho định lượng đồng thời 6-shogaol, 6-gingerol, 8-gingerol, 10-gingerol trong các mẫu gừng nguyên liệu, bán thành phẩm.

### **BÀN LUẬN**

Phương pháp HPLC có độ chính xác, độ nhạy cao, thời gian phân tích nhanh và phù hợp với hầu hết các phòng kiểm nghiệm trong nước. Kết quả nghiên cứu cho thấy phương pháp định lượng đồng thời 6-shogaol, 6-gingerol, 8-gingerol, 10-gingerol bằng HPLC sử dụng AQ - C18 (150 x 4,6mm, 5 $\mu\text{m}$ ), detector UV, bước sóng 280 nm; hệ dung môi pha động: Acetonitril (C) và acid acetic 0,1% (A) chạy theo chương trình gradient; thể tích bơm mẫu là 10 $\mu\text{L}$ ; tốc độ dòng pha động là 1,0 mL/phút đơn giản, để

thực hiện, phương pháp có độ đặc hiệu, độ nhạy, tính tương thích hệ thống, độ chính xác và độ đúng cao. Kết quả này làm cơ sở cho việc nghiên cứu định lượng trong phép thử độ hòa tan cũng như kiểm nghiệm hàm lượng của các hợp chất phenolic trong gừng nguyên liệu và dạng bào chế.

### **KẾT LUẬN**

Đã xây dựng và thẩm định được phương pháp định lượng đồng thời 6-shogaol, 6-gingerol, 8-gingerol, 10-gingerol bằng HPLC sử dụng AQ - C18 (150 x 4,6mm, 5 $\mu\text{m}$ ), detector UV

đo ở 280nm; hệ dung môi pha động: Acetonitril (C) và acid acetic 0,1% (A) chạy theo chương trình gradient (0 - 10 phút, C 50%; 10 - 40 phút, C 50% - 90%; 40 - 45 phút, C 90% - 100%; 45 - 50 phút, C 100% - 50%); thể tích bơm mẫu là 10 $\mu$ l; tốc độ dung môi pha động là 1,0 mL/phút. Phương pháp đã xây dựng là tương thích với hệ thống sắc ký, đảm bảo độ chọn lọc đặc hiệu; độ đúng (> 95%) và độ chính xác cao (RSD < 2,0%) đáp ứng yêu cầu quy định của ICH.

#### **TÀI LIỆU THAM KHẢO**

1. Đỗ Tất Lợi. *Những cây thuốc và vị thuốc Việt Nam*. Nhà xuất bản Y học, Hà Nội. 2004:366-369.

2. Phạm Thanh Kỳ. *Dược liệu học tập 2* (xuất bản lần thứ 1). Nhà xuất bản Y học. 2015:223-225.

3. Mao QQ, Xu XY, Cao SY, et al. Bioactive compounds and bioactivities of ginger (*Zingiber officinale* Roscoe). *Foods* (Basel, Switzerland). 2019; 8(6):185.

4. Nguyễn Xuân Quỳnh, Phạm Văn Hiến, Đặng Trường Giang, Trần Kim Thanh, Vũ Bình Dương. Định lượng đồng thời 6-gingerol và 6-shogaol trong củ gừng (*Rhizoma Zingiberis*) bằng phương pháp HPLC. *Tạp chí Dược học*. 2018; 58:46-50.

5. ICH. Validation of analytical procedures: Text and methodology, Q2R1. 2005.