

大蒜粉功效成分检测方法的优化

叶少文*

(汤臣倍健股份有限公司, 珠海 519040)

摘要: **目的** 通过对比美国药典、欧洲药典和中国药典检测大蒜(粉)功效成分的区别, 理清国内外大蒜(粉)功效成分的研究方向, 并对美国药典检测大蒜粉的功效成分——蒜氨酸的检测方法进行优化, 提出一个操作更加简便, 计算更加准确的蒜氨酸检测方法。**方法** 称取试样适量用 70%乙醇超声提取, 进行高效液相色谱法分析, 用十八烷基硅烷键合硅胶为填料的色谱柱分离, 流动相为甲醇: 5 mmol/L 庚烷磺酸钠(磷酸调 pH 至 2), 蒜氨酸标准品(美国药典)定量计算其含量。**结论** 蒜氨酸浓度在 0.035616~0.213696 mg/mL 的范围内与峰面积的线性良好, 相关系数 $r > 0.999$ 。在 80%、100%、120%添加水平下, 蒜氨酸的回收率为 98.0%。**结论** 该方法操作简便、准确、重现性好, 适用于大蒜粉中蒜氨酸的含量测定。

关键词: 药典; 大蒜粉; 蒜氨酸; 检测方法

Optimization of detection method for garlic powder composition

YE Shao-Wen*

(By-Health Co., Ltd., Zhuhai 519040, China)

ABSTRACT: Objective By comparing the difference of garlic (powder) efficacy composition in the United States Pharmacopoeia, European Pharmacopoeia and Chinese Pharmacopoeia, the optimization method of alliin was researched. Considering the detection of garlic powder composition in the United States Pharmacopoeia, the paper proposed a more simple operation with more accurate calculation for alliin detection. **Methods** The sample was extracted with 70% ethanol ultrasonic and then analyzed by high performance liquid chromatography (HPLC), and octadecyl silane bonded silica gel as the filler of chromatographic column separation was used. The mobile phase of methanol: 5 mmol/L sodium heptane sulfonate (the pH was adjusted by phosphate to 2), the content was calculated by alliin standard (USP) quantitatively. **Results** Alliin concentration in 0.035616~0.213696 mg/mL had a good linearity with peak area, and within the range the correlation coefficients $r > 0.999$. At the level of adding at 80%, 100%, and 120%, the recovery rate was 98.0%. **Conclusion** The method is simple, accurate and reproducible, and suitable for determination of the alliin content in garlic powder.

KEY WORDS: Pharmacopoeia; garlic powder; alliin; detection methods

1 引言

大蒜粉是大蒜经过一定工艺制成的粉状原料, 大蒜(粉)的功效成分近年来成为保健食品市场的热点研究课题^[1], 国内外药典对大蒜(粉)的功效成分,

检测方法也有说明^[2]。由于大蒜(粉)的功效成分复杂, 国内外药典对大蒜(粉)的功效成分检测和说明也有所区别。中国药典以大蒜为收录品, 其检测大蒜的功效成分为大蒜素(化学名称: 二丙烯基三硫醚, 分子式: $C_6H_{10}S_3$)^[3], 欧洲药典收录了大蒜粉中大蒜辣素

*通讯作者: 叶少文, 西药师, 主要研究方向为保健食品的质量检测。E-mail: 442884571@qq.com

*Corresponding author: YE Shao-Wen, Herbalists, By-Health Co., Ltd, Zhuhai 519040, China. E-mail: 442884571@qq.com

(英文名: Allicin, 化学名: 二丙烯基硫代亚磺酸酯, 分子式 $C_6H_{10}S_2O$) 的检测方法, 美国药典收录了大蒜粉中蒜氨酸[英文名: (+)-*L*-Alliin, (-)-*L*-Alliin; 化学名称: S-烯丙基-*L*-半胱氨酸亚砷, S-丙烯基-*L*-半胱氨酸亚砷], 大蒜辣素的检测方法^[4]。由于蒜氨酸在大蒜中含量较高, 因而具有较高的研究价值^[5]。美国药典用衍生法检测大蒜粉中蒜氨酸含量, 该方法样品前处理复杂, 且衍生反应步骤难以控制, 在检测的稳定性中难以到达良好的效果。本文参考美国药典的对照品信息, 把样品前处理变成 70%乙醇超声提取, 操作简便, 稳定性好, 精密度高。

2 材料与方法

2.1 试剂和仪器

蒜氨酸标准品(纯度: 96.0%, 来源: 美国药典, 批号: FIL004)^[6]; 甲醇(色谱纯, 北京迪马欧泰科技发展有限公司); 磷酸(分析纯, 广州化学试剂厂); 无水乙醇(分析纯, 广州化学试剂厂); 庚烷磺酸钠(色谱纯, 广州化学试剂厂); 大蒜粉(成都菊乐股份有限公司)。

高效液相色谱仪(型号: 1260 带 UV 检测器, 美国安捷伦公司)^[7]。

2.2 色谱条件

色谱柱: Phenomenex Gemini-NX 5 μm , 4.6 $\times$ 250 mm^[8]。柱温: 35 $^{\circ}C$ 。流动相: 甲醇: 5 mmol/L 庚烷磺酸钠(磷酸调节 pH 至 2.5)=13:87。流速: 1.0 mL/min。进样量: 10 μL 。运行时间: 20 min/针。检测器波长: 210 nm。

2.3 标准品溶液的配制

精确称取蒜氨酸对照品 18.55 mg 于 10 mL 容量瓶中, 加入 50%甲醇溶液溶解并定容至刻度, 摇匀^[9]。精密吸取 0.2、0.4、0.6、0.8、1.2 mL 于 10 mL 容量瓶中, 用 50%甲醇溶液配成蒜氨酸浓度为 0.035616、0.071232、0.106848、0.142464、0.213696 mg/mL 的标准溶液^[9]。

2.4 供试品溶液的配制

称取均匀的样品 50 mg 至 25 mL 容量瓶中, 加入适量 70%乙醇溶液超声(40 kHz)20 min, 用 70%乙醇溶液定容至容量瓶刻度, 摇匀过 0.45 μm 有机滤膜, 上机待测^[10]。

2.5 线性实验

将蒜氨酸标准溶液, 经 0.45 μm 的微孔有机滤膜过滤, 进行高效液相色谱分析, 记录色谱图, 以标准品浓度为(*X*)横坐标, 标准品的峰面积(*Y*)为纵坐标, 绘制标准曲线, 求得回归方程^[11]。

2.6 精密性实验

精密称取样品 6 份, 按 2.4 供试品制备方法处理样品, 检测样品含量, 计算其相对标准偏差 RSD(%)^[12]。

2.7 加标回收实验

精密称取约 50 mg 样品 9 份, 置于 25 mL 容量中, 分成 3 组, 每组 3 份, 于每一组中分别精密加入蒜氨酸标准使用液(浓度为 1.7808 mg/mL)各 3 个 80%、100%、120%不同梯度的量, 按 2.4 供试品制备方法处理样品, 经 0.45 μm 的微孔有机滤膜过滤, 即为加标溶液^[13]。

3 结果与讨论

3.1 标准曲线确证结果

蒜氨酸标准溶液浓度为 0.035616、0.071232、0.106848、0.142464 和 0.213696 mg/mL 分别对应的峰面积为 315.49、616.22、928.41、1239.64 和 1857.89。其标准曲线方程见表 1, 其相关系数为 0.9999, 表明蒜氨酸浓度在 0.035616~0.213696 mg/mL 的范围内均具有良好的线性。

表 1 标准曲线方程
Table 1 The standard curve equation

名称	标准曲线方程	相关系数(<i>r</i>)
蒜氨酸	$Y=8686.3X+1.2878$	0.9999

3.2 检出限和定量限

分析方法的检出限 LOD 和定量限 LOQ 由信噪比(*S/N*)计算。LOD 定义为 *S/N*=3 时对应的待分析浓度, LOQ 定义为 *S/N*=10 时对应的待分析浓度。

3.2.1 检出限

将蒜氨酸浓度为 LOD=0.15 $\mu g/mL$ 的对照溶液进样, 通过工作软件计算得 *S/N*=3。按实际样品的处理过程计算, 蒜氨酸的方法检出限为: 0.15

$\mu\text{g/mL} \times 25 \text{ mL} / 1000 / 50 \text{ mg} \times 100 = 0.0075\%$

3.2.2 定量限

以 $S/N=10$ 定方法的检测浓度为: $LOQ = LOD/3 \times 10$, 按照实际样品的处理过程计算, 蒜氨酸的方法定量限为: $0.0075/3 \times 10 = 0.025\%$ 。

3.3 精密度实验

蒜氨酸的精密度结果见表 2, 6 个样品的相对标准偏差(RSD)均小于 1.3%, 表明该方法有良好的精密度。

3.4 回收率实验

蒜氨酸在 3 个不同添加水平下浓度的回收率结果见表 3, 3 个浓度下样品中的蒜氨酸的提取平均回收率为: 98.0%, 相对标准偏差(RSD)均小于 1.3%。

3.5 实际样品的测定

在 2.2 条件下, 与蒜氨酸标准品色谱峰(如图 1)相对应的位置上, 可以分离大蒜粉中的蒜氨酸 2 个同分

异构体, 如图 2 所示, 分离效果良好, 同时也不会受杂质峰的影响。

4 结果与讨论

蒜氨酸是大蒜中天然存在的主要功效成分, 其本身含有两个同分异构体(见图 1), 2 个同分异构体的功效作用是相同的。目前国内没有法定机构出售蒜氨酸的标准品, 国内其他机构出售的蒜氨酸标准品只有一个蒜氨酸峰, 而美国药典的蒜氨酸标准品明确指出包含了蒜氨酸的两个同分异构体^[14]。在检测数据计算中, 用 2 个同分异构体的标准峰一起共同定量更加准确和科学, 其检测大蒜粉中蒜氨酸结果平均值为 2.23%, 精密度为 0.6%, 回收率为 98.0%, 表明本试验具有良好的精密度和准确率, 用该方法能对大蒜粉中蒜氨酸的测定起到准确的质量控制目的。本文通过 70%乙醇溶液对样品进行超声提取, 经色谱柱(Phenomenex Gemini-NX 5 μm , 4.6 mm $\times$ 250 mm), 可以分离大蒜粉中的蒜氨酸的两

表 2 精密度的实验($n=6$)
Table 2 The precision of the experimental ($n= 6$)

名称	含量(%)	平均含量(%)	RSD(%)
蒜氨酸	2.23	2.23	0.6
	2.24		
	2.22		
	2.23		
	2.21		
	2.24		

表 3 加标回收率实验结果($n=9$)
Table 3 The standard addition recovery experiment ($n=9$)

名称	理论加标量(mg)	实际测得标准品量(mg)	回收率(%)	平均回收率(%)	RSD(%)
蒜氨酸	0.8737	0.8904	98.12	98.0	0.7
	0.8731	0.8904	98.05		
	0.8847	0.8904	99.35		
	1.0756	1.1041	97.41		
	1.0729	1.1041	97.17		
	1.0879	1.1041	98.53		
	1.3038	1.3356	97.61		
	1.3044	1.3356	97.66		
	1.3072	1.3356	97.87		

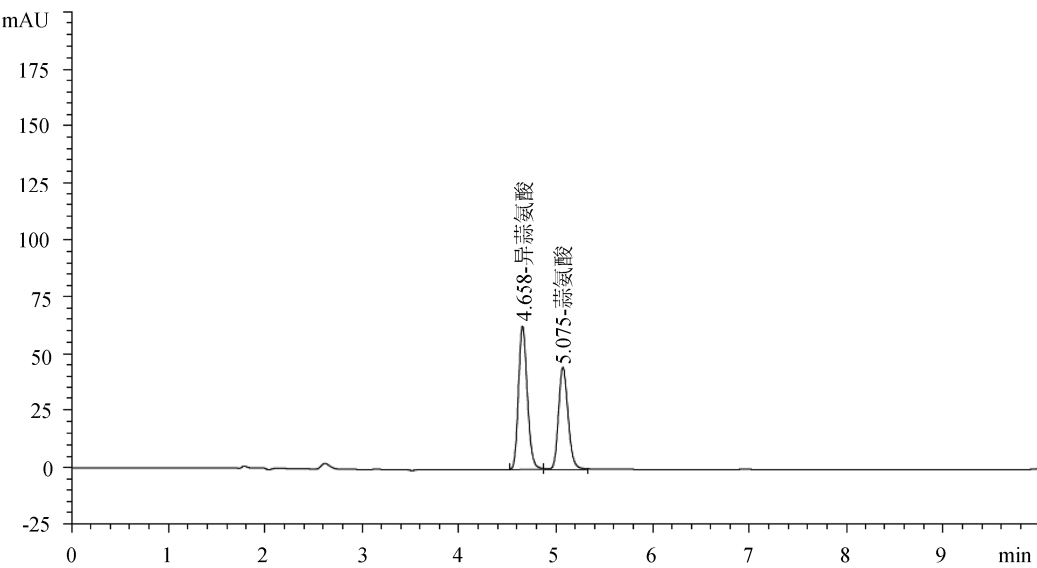


图 1 蒜氨酸标准品色谱图
Fig. 1 Chromatogram of alliin standard

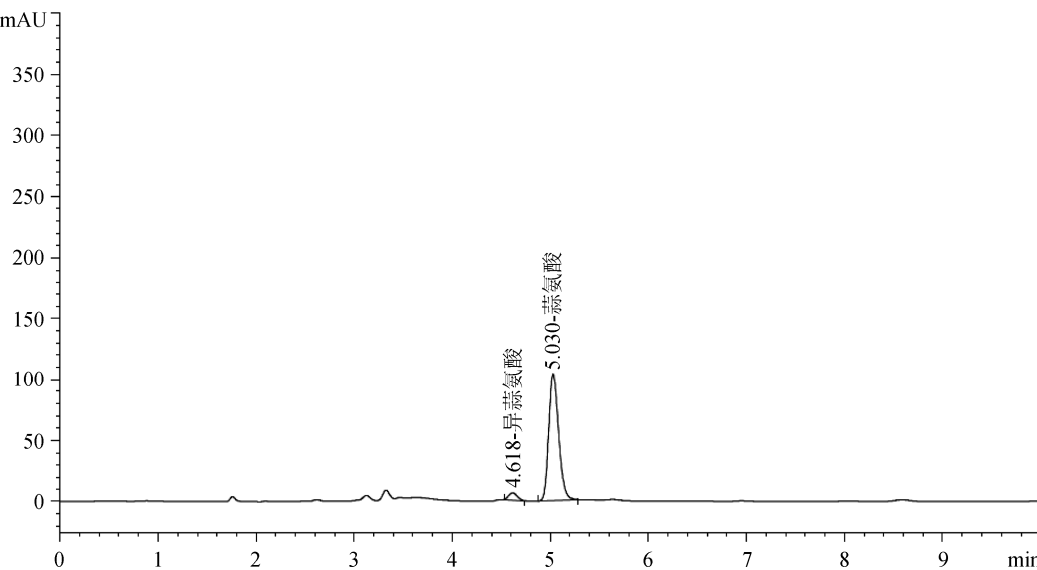


图 2 样品的色谱图
Fig. 2 Chromatogram of sample

个同分异构体, 并进行准确的定量检测。与美国药典衍生方法比较, 本方法具有操作简便, 低成本, 高效率的优势, 表明该方法更加适用于测定大蒜粉中蒜氨酸的含量检测^[15]。

参考文献

[1] 梁斌, 杨锐. 大蒜油提取方法及其研究进展[J]. 固原师专学报, 2002, (3): 222-225.

Liang B, Yang R. Garlic oil extraction method and its research progress [J]. J Nat Guyuan Teachers, 2002, (3): 222-225.

[2] 王海平, 李锡香, 刘新艳, 等. 大蒜辣素 UPLC 检测体系优化及其在大蒜资源评价中的应用[J]. 植物遗传资源学报, 2012, (6): 247-248.

Wang HP, Li XX, Liu XY *et al.* Garlic spicy element UPLC detection system optimization and its application in garlic resources evaluation [J]. J Plant Genetic Res, 2012, (6): 247-248.

- [3] 何妮, 刘进玺, 董小海. 蒜素快速检测方法的建立及应用[J]. 中国调味品, 2013, (10): 68–70.
- He N, Liu JX, Dong XH. Establishment and application of allicin rapid detection method [J]. Chin Spices, 2013, (10): 68–70.
- [4] 孙永慧, 王桂姬, 张颖, 等. 高效液相色谱法测定大蒜油缓释片中大蒜素的含量[J]. 中国中医药信息杂志, 2010, (2): 235–237.
- Sun YH, Wang GJ, Zhang Y. High performance liquid chromatography (HPLC) method for determination of the content of allicin in garlic oil zyban [J]. Chin J Med Inform, 2010, (2): 235–237.
- [5] 张民, 陈倩娟, 刘玉柱. HPLC 法测定大蒜中蒜氨酸和大蒜素的含量[J]. 食品与发酵工业, 2009, (2): 124–126.
- Zhang M, Chen QJ, Lliu YZ. HPLC method for determination of alliin in garlic and the content of allicin [J]. J Food Ferment Ind, 2009, (2): 124–126.
- [6] 唐辉, 陈坚. 蒜氨酸及其相关活性组分的研究进展[J]. 国际药学研究杂志, 2008, (6): 59–61.
- Tang H, Chen J. Alliin and related research progress of active components [J]. J Int Pharm Res, 2008, (6): 59–61.
- [7] 李瑜, 许时婴. 分光光度法测定大蒜提取物中硫代亚磺酸酯[J]. 食品与机械, 2004, (3): 137–139.
- Li Y, Xu SY. Spectrophotometry in garlic extract the sulfonic acid ester [J]. J Food Mach, 2004, (3): 137–139.
- [8] 鞠秀兰, 禹海波, 荆晓薇. 大蒜素的研究与应用[J]. 卫生职业教育, 2010, (7): 114–116.
- JuXL, Yu HB, Jing XW. The research and application of allicin [J]. J Health Vocational Education, 2010, (7): 114–116.
- [9] 张丽霞, 张国强. 大蒜素含量的测定方法研究[J]. 湖北农业科学, 2009, (3): 146–148.
- Zhang LX, Zhang GQ. Allicin content determination method research [J]. J Hubei Agric Sci, 2009, (3): 146–148.
- [10] 姚军, 张明月, 张培. 保健食品中大蒜素含量的测定[J]. 中国卫生检验杂志, 2008, (5): 46–48.
- Yao J, Zhang MY, Zhang P. The determination of allicin content in the health food [J]. Chin J Health Inspect, 2008, (5): 46–48.
- [11] 宋光林, 杨鸿波, 谢峰. 高效液相色谱法测定蒜油中大蒜素的含量[J]. 食品科技, 2007, (4): 36–38.
- Song GL, Yang HB, Feng X. High performance liquid chromatography (HPLC) method for determining the content of allicin in garlic oil [J]. J Food Sci Technol, 2007, (4): 36–38.
- [12] 蒋慧, 刘斐. 高效液相色谱法测定大蒜素注射液中大蒜素的含量[J]. 中国药业, 2005, (2): 201–202.
- Jiang H, Liu F. High performance liquid chromatography (HPLC) method for determination of the content of allicin in garlic injection [J]. China Pharm Ind, 2005, (2): 201–202.
- [13] 洪亮, 张权, 陈文生. 高效液相色谱法测定蒜油中大蒜素的含量[J]. 贵州师范大学学报(自然科学版), 2013, (4): 152–153.
- Hong L, Zhang Q, Cheng WS. High performance liquid chromatography (HPLC) method for determination of the content of allicin in garlic oil [J]. J Guizhou Normal Univ (Nat Sci Ed), 2013, (4): 152–153.
- [14] 高燕, 刘青, 赵渤年. 大蒜中大蒜素含量的质量研究[J]. 药学研究, 2013, (4): 89–91.
- Gao Y, Liu Q, Zhao BN. The quality of the garlic allicin content in the study [J]. J Pharm Res, 2013, (4): 89–91.
- [15] 徐巍, 苏乐群, 李宏建. 大蒜素的研究进展[J]. 中国医院药学杂志, 2007, (6): 116–118.
- Xu W, Su LQ, Li HJ. The research progress of allicin [J]. Chin J Hospital Pharm, 2007, (6): 116–118.

(责任编辑: 白洪健)

作者简介



叶少文, 西药师, 主要研究方向为保健食品的质量检测。

E-mail: 442884571@qq.com