

新疆境外其他地区大蒜功效成分含量的差异,为评价不同来源大蒜的药用价值提供依据。

1 材料与方法

1.1 原料

新鲜大蒜鳞茎,采自新疆境内克州地区阿合奇县、伊犁地区昭苏县、阿克苏地区乌什县、昌吉州地区吉木萨尔县及山东苍山、河南中牟等不同居群共25份,原料信息见表1。

表1 大蒜原料信息

Table 1 Sources and skin color of garlic samples

| 序号 | 编号 | 来源地 | 性状 |
|----|-------------------|----------------------|----|
| 1 | 090925-YLZSHNHKSK | 新疆伊犁昭苏县洪纳海乡克斯克村 | 紫皮 |
| 2 | 090925-YLZSAKDL | 新疆伊犁昭苏县阿克达拉乡 | 紫皮 |
| 3 | 090927-AKWSYMS | 新疆阿克苏乌什县亚曼苏乡一大队 | 白皮 |
| 4 | 090928-AKWSATBX | 新疆阿克苏乌什县奥特贝希乡 | 白皮 |
| 5 | 090928-AHQLZC | 新疆阿合奇县良种场 | 白皮 |
| 6 | 090928-AHQHLQ | 新疆阿合奇县哈拉奇乡哈拉奇村二队 | 白皮 |
| 7 | 090928-AHQSMTS | 新疆阿合奇县苏塔塔什乡 | 白皮 |
| 8 | 090928-AHQKLSRK | 新疆阿合奇县库兰萨日克乡一大队 | 白皮 |
| 9 | 090928-AHQAQZ | 新疆阿合奇县阿合奇镇 | 白皮 |
| 10 | 090907-YLYNB | 新疆伊犁伊宁县(白皮) | 白皮 |
| 11 | 090907-YLYNZ | 新疆伊犁地区伊宁县紫皮 | 紫皮 |
| 12 | 090907-KS | 新疆喀什地区喀什市 | 紫皮 |
| 13 | 090907-KSSL | 新疆喀什地区疏勒县 | 紫皮 |
| 14 | 090907-BC | 新疆阿克苏拜城县 | 白皮 |
| 15 | 090910-SHZ | 新疆石河子市石河子乡 | 白皮 |
| 16 | 090907-WSU | 新疆塔城地区乌苏县 | 白皮 |
| 17 | 090902-JMSR1 | 新疆吉木萨尔县1(09年引种自阿合奇) | 白皮 |
| 18 | 090902-JMSR2 | 新疆吉木萨尔县2(05年引种自阿合奇) | 白皮 |
| 19 | 090902-JMSR3 | 新疆吉木萨尔县3(07年引种自甘肃酒泉) | 紫皮 |
| 20 | 090907-HNXP | 河南省南阳市西峡县 | 白皮 |
| 21 | 090824-HNZM | 河南省郑州市中牟县 | 白皮 |
| 22 | 090902-SDCS | 山东省临沂市苍山县 | 白皮 |
| 23 | 090907-SDHZ | 山东省菏泽市 | 白皮 |
| 24 | 090824-SDJX | 山东省济宁市金乡县 | 白皮 |
| 25 | 090907-GSZY | 甘肃省张掖市民乐县 | 紫皮 |

1.2 试剂

99% 羟苯丁酯(分析纯,批号1028679) 德国 ABCR GmbH & CO.KG 公司; 无水甲酸(分析纯,批号20000801) 沈阳市新西试剂厂; 甲醇(色谱纯,批号10071753) 美国 Honeywell 公司出品,韩国 SK Chemicals 公司分装; 体积分数1%的甲酸溶液。

1.3 仪器与设备

2690 型高效液相色谱仪、2487 双管道紫外检测器 美国 Waters 公司; CED-220B 打浆机 广东省佛山市顺德区欧科电器有限公司; LXJ-64-01 离心机(4000r/min) 北京医疗仪器厂。

1.4 色谱条件

Waters 2690 高效液相色谱仪, Hypersil BDS C₁₈

(4.6mm × 250mm, 5 μm) 色谱柱; 1% 甲酸 - 甲醇混合溶液(40:60, V/V); 流速: 0.8mL/min; 检测波长: UV 254nm; 柱温: 35℃; 进样量: 10 μL。

1.5 羟苯丁酯内标液的制备

精密称取 20.0mg 羟苯丁酯溶于 100.0mL 等体积的甲醇和水的混合物中, 最终质量浓度为 0.2mg/mL。

1.6 供试液的制备

新鲜大蒜去皮、洗净, 每个居群样品各称量3份, 每份约10g左右。加约40mL双蒸水打浆1min, 将浆液转移至100mL容量瓶中, 用二蒸水定容至刻度, 在35℃水浴^[20]放置10min。取出适量浆液高速离心(9000r/min)10min。取1mL上清液用1%甲酸-甲醇混合溶液定容至10.0mL, 制成储备液。取0.50mL羟苯丁酯内标液于容量瓶中, 用上述储备液稀释至10.0mL, 摇匀。用针孔式过滤器进行微孔(0.22 μm)滤膜过滤, 置于2mL自动进样器中待测。

2 结果与分析

2.1 色谱分离与分析

羟苯丁酯内标液色谱分离情况如图1所示, 新鲜大蒜供试液色谱分离情况如图2所示。结果表明, 分离度大于1.5, 符合色谱分离要求; 羟苯丁酯及样品中的大蒜辣素在其色谱条件下的保留时间分别为14.660、5.669min。

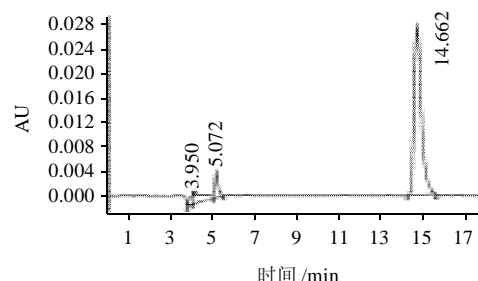


图1 羟苯丁酯内标液色谱图

Fig.1 Chromatogram of the internal standard butyl p-hydroxybenzoate

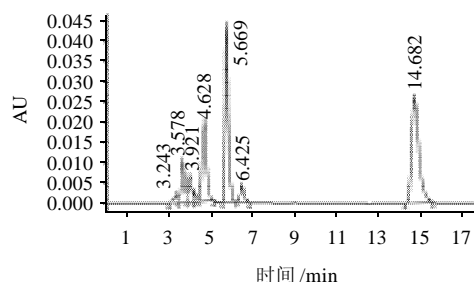


图2 大蒜辣素测定供试液色谱图

Fig.2 Chromatogram of allicin in garlic samples

2.2 潜在大蒜辣素含量测定

$$\text{潜在大蒜辣素含量}/\% = \frac{A_1 \times 10.53 \times 8.65}{A_2 \times m \times 1000} \times 100$$

式中： A_1 为大蒜辣素的峰面积； A_2 为羟苯丁酯的峰面积； m 大蒜样品的称样质量/g；10.53 是换算系数；1mg 羟苯丁酯相当于 8.65mg 大蒜辣素。

表 2 潜在大蒜辣素含量测定结果($n=3$)Table 2 The contents of allicins in garlic samples ($n=3$)

| 序号 | 样品编号 | 潜在大蒜辣素平均含量/% | RSD/% |
|----|-------------------|--------------|-------|
| 1 | 090925-YLZSHNHKSK | 0.318 | 0.19 |
| 2 | 090925-YLZSAKDL | 0.396 | 0.50 |
| 3 | 090927-AKSWSYMS | 0.648 | 0.11 |
| 4 | 090928-AKSWSATBX | 0.537 | 0.13 |
| 5 | 090928-AHQLZC | 0.535 | 0.09 |
| 6 | 090928-AHQHLQ | 0.493 | 0.18 |
| 7 | 090928-AHQSMST | 0.631 | 0.12 |
| 8 | 090928-AHQKLSRK | 0.635 | 0.11 |
| 9 | 090928-AHQAHQZ | 0.534 | 0.02 |
| 10 | 090907-YLYNB | 0.197 | 0.07 |
| 11 | 090908-YLYNZ | 0.322 | 0.20 |
| 12 | 090907-KS | 0.257 | 0.08 |
| 13 | 090907-KSSL | 0.270 | 0.17 |
| 14 | 090907-BC | 0.313 | 0.27 |
| 15 | 090910-SHZ | 0.346 | 0.07 |
| 16 | 090907-WSU | 0.434 | 0.06 |
| 17 | 090902-JMSR1 | 0.243 | 0.22 |
| 18 | 090902-JMSR2 | 0.344 | 0.09 |
| 19 | 090902-JMSR3 | 0.257 | 0.19 |
| 20 | 090907-HNXP | 0.310 | 0.24 |
| 21 | 090824-HNZM | 0.296 | 0.03 |
| 22 | 090902-SDCS | 0.584 | 0.07 |
| 23 | 090907-SDHZ | 0.308 | 0.09 |
| 24 | 090824-SDJX | 0.401 | 0.08 |
| 25 | 090907-GSZY | 0.403 | 0.14 |

由表 2 可见，25 份大蒜样品潜在大蒜辣素平均含量为 0.400%。新疆境内的 19 份大蒜样品的潜在大蒜辣素平均含量(0.406%)明显高于其他省区的 6 份大蒜样品的潜在大蒜辣素平均含量(0.384%)；其中，采自新疆境内新疆阿克苏乌什县亚曼苏乡一大队的 3 号样品潜在大蒜辣素含量最高，达 0.648%，采自山东苍山的 22 号样品在新疆境外样品中潜在大蒜辣素含量最高，为 0.584%，两者潜在大蒜辣素含量相差 0.105%；采自新疆境内新疆伊犁伊宁县白皮的 10 号样品潜在大蒜辣素含量最低，仅为 0.197%，采自河南中牟的 21 号样品在新疆境外样品中潜在大蒜辣素含量最低，为 0.296%，两者潜在大蒜辣素含量相差 0.099%；共有 8 份采自新疆境内的大蒜样品潜在大蒜辣素含量高于所有样品潜在大蒜辣素平均含量，共有 3 份采自新疆境外的大蒜样品潜在大蒜辣素含量高于潜在大蒜辣素平均含量；总体而言，源自新疆境内南

疆阿克苏地区乌什县和克尔克孜自治州地区阿合奇县的大蒜样品的潜在大蒜辣素含量明显高于其他省区的 6 份大蒜样品的潜在大蒜辣素含量，药用价值值得关注；新疆境内大蒜样品的潜在大蒜辣素含量呈现如下趋势，即南疆阿克苏地区乌什县和克尔克孜自治州地区阿合奇县的大蒜样品潜在大蒜辣素含量高于源自北疆伊犁等地区的样品，也高于采自东疆如吉木萨尔县的样品，药用价值更具优势。

2.3 聚类分析

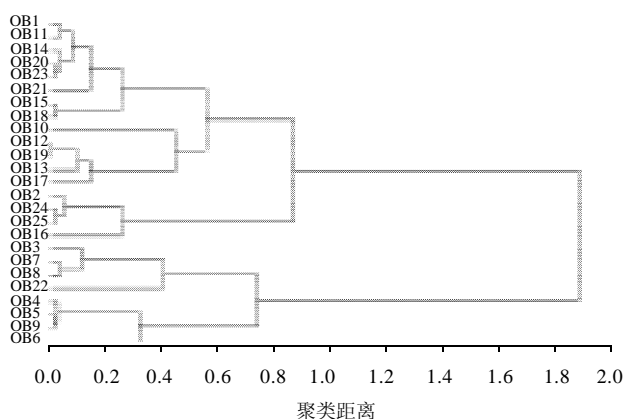


图 3 潜在大蒜辣素含量测定结果聚类树状图

Fig.3 Cluster analysis dendrogram based on allicin content

以潜在大蒜辣素含量测定结果为聚类依据，利用 SAS 8.2 统计软件，采用平均距离法进行聚类分析，得到聚类树状图，如图 3 所示。

由图 3 可知，按照潜在大蒜辣素含量的高低，25 份大蒜样品可以分为五大类。3、7、8、22 号共 4 份样品聚为一类，代表潜在大蒜辣素含量最高组，其中，3 份为新疆境内南疆阿克苏地区乌什县和克尔克孜自治州地区阿合奇县的大蒜样品，1 份为山东苍山样品；4、5、6、9 号共 4 份样品聚为一类，代表潜在大蒜辣素含量较高组，均为新疆境内南疆阿克苏地区乌什县和克尔克孜自治州地区阿合奇县的大蒜样品；2、16、24、25 号共 4 份样品聚为一类，代表潜在大蒜辣素含量一般组，其中，2 份为新疆境内大蒜样品，源自北疆和东疆，2 份为其他省区样品；1、11、14、15、18、20、21、23 号共 8 份样品聚为一类，代表潜在大蒜辣素含量较低组，其中，5 份为新疆境内大蒜样品，源自北疆和东疆，3 份为其他省区样品；最后，10、12、13、17、19 号共 5 份样品聚为一类，代表潜在大蒜辣素含量最低组。

3 结 论

3.1 由于大蒜辣素较不稳定，故需快速测定，本研究

测定的是潜在大蒜辣素含量;鲜蒜中蒜酶活力大,与含量有限的蒜氨酸充分反应不需欧洲药典上报道的30min,仅需10min即可;此外,由于鲜蒜中蒜酶活力大,蒜氨酸与蒜酶的反应并非简单的反应式对应关系,故将蒜氨酸含量按照反应式反推即得大蒜辣素含量值得商榷与斟酌,反之亦然。

3.2 含量测定结果及聚类分析结果表明,不同地理居群大蒜样品的潜在大蒜辣素含量存在明显差异,药用活性成分含量是否受诸如海拔高度、经纬位置、日照条件、土壤成分、水源水质等环境要素的影响,有待需进一步探究其相关性。

3.3 研究发现新疆境内天山山脉以南的南疆阿克苏地区和克尔克孜自治州地区的大蒜样品药用活性成分含量高,该地区的大蒜产品可以作为大蒜药材原料进一步进行研究。

参考文献:

- [1] UCHIDA Y, TAKAHASGI T, SATO N. The characteristics of the antibacterial activity of garlic[J]. Japan Journal of Antibiot, 1975, 28(4): 638-642.
- [2] 赵悦, 赵虹, 王伟. 大蒜药理作用实验进展[J]. 吉林中医药, 1997, 17(6): 40-41.
- [3] 张丽静, 常军民, 李新华, 等. 反相高效液相色谱法测定大蒜中蒜氨酸的含量[J]. 色谱, 2004, 22(4): 459.
- [4] 马海乐, 杨恒星, 代春华, 等. 高效毛细管电泳法测定大蒜中蒜氨酸含量[J]. 食品科学, 2005, 26(2): 189-192.
- [5] HUGHES J, TREGOVA A, TOMSETT A B, et al. Synthesis of the flavour precursor, alliin, in garlic tissue cultures[J]. Phytochemistry, 2005, 66(2): 187-194.
- [6] 陈锋, 陈坚, 许晏. 大蒜抗肿瘤作用研究进展[J]. 中国现代中药, 2008, 10(12): 9-12.
- [7] 严常开, 曾繁典. 大蒜的主要化学成分及其药理作用研究进展[J]. 中国新药杂志, 2004, 13(8): 688-691.
- [8] 李云辉. 硫酸钡沉淀法测定大蒜粉中的大蒜素[J]. 科技创新导报, 2009(16): 70.
- [9] 刘保启, 王玉春, 胡孝忠. 薄层扫描法测定挥发大蒜油中的大蒜辣素[J]. 分析科学学报, 2004, 20(1): 60-62.
- [10] ROSEN R T, HISERODT R D. Determination of allicin, *s*-allyl cysteine and volatile metabolites of garlic in breath, plasma or simulated gastric fluids[J]. The Journal of Nutrition, 2001, 22(1): 968-971.
- [11] 王国强, 陈爱瑛. 毛细管气相色谱法测定大蒜油软胶囊中大蒜素的含量[J]. 中国现代应用药学, 2008, 25(7): 659-660.
- [12] 朱崑, 应惠芳. 大蒜中大蒜素含量简便测定法[J]. 食品科技, 2008(8): 187-189.
- [13] 张丽霞, 张国强. 大蒜素含量的测定方法研究[J]. 湖北农业科技, 2009, 48(3): 713-714.
- [14] 崔钢, 裘爱泳, 胥传来. 阳极溶出伏安法间接测定大蒜中的大蒜辣素[J]. 食品科学, 2006, 27(6): 187-189.
- [15] European Pharmacopoeia Commission. European pharmacopoeia 5.0 [S]. Strasbourg: Council of Europe, 2006: 1651.
- [16] 黄力, 杨宁. 大蒜素的分析方法研究近况[J]. 中国药品标准, 2004, 6(5): 3-5.
- [17] RYBAK M E, CALVEY E M, HARNLY J M. Quantitative determination of allicin in garlic: supercritical fluid extraction and standard addition of alliin[J]. J Agric Food Chem, 2004, 52(4): 682-687.
- [18] 袁耀佐, 顾洁, 杭太俊, 等. 用替代对照品羟苯乙酯高效液相色谱法测定大蒜辣素[J]. 分析化学, 2008, 36(8): 1083-1088.
- [19] 李叙勇, 史玉宝, 明江波. 高效液相色谱法测定大蒜及其制品中的大蒜素[J]. 分析科学学报, 1997, 16(6): 50-51.
- [20] 王伟萍, 常军民, 陈坚. HPLC法测定蒜酶催化蒜氨酸生成大蒜辣素的配比及稳定性研究[J]. 新疆医科大学学报, 2003, 26(6): 534-536.