

附件 5

团体标准征求意见反馈表

提出单位（盖章）				
序号	标准名称	标准章条编号	意见内容	处理意见及理由
1	<input type="checkbox"/> 《大蒜粉》 <input type="checkbox"/> 《大蒜及其制品中蒜氨酸的测定 高效液相色谱法》			
2	<input type="checkbox"/> 《大蒜粉》 <input type="checkbox"/> 《大蒜及其制品中蒜氨酸的测定 高效液相色谱法》			
3	<input type="checkbox"/> 《大蒜粉》 <input type="checkbox"/> 《大蒜及其制品中蒜氨酸的测定 高效液相色谱法》			
4	<input type="checkbox"/> 《大蒜粉》 <input type="checkbox"/> 《大蒜及其制品中蒜氨酸的测定 高效液相色谱法》			
5	<input type="checkbox"/> 《大蒜粉》 <input type="checkbox"/> 《大蒜及其制品中蒜氨酸的测定 高效液相色谱法》			
6	<input type="checkbox"/> 《大蒜粉》 <input type="checkbox"/> 《大蒜及其制品中蒜氨酸的测定 高效液相色谱法》			
7	<input type="checkbox"/> 《大蒜粉》 <input type="checkbox"/> 《大蒜及其制品中蒜氨酸的测定 高效液相色谱法》			
8	<input type="checkbox"/> 《大蒜粉》 <input type="checkbox"/> 《大蒜及其制品中蒜氨酸的测定 高效液相色谱法》			

提出意见委员或专家签名：

年 月 日

（纸幅不够，请附页）

团体标准《大蒜粉》编制说明

一、工作简况

（一）任务来源

任务来源于自选。

获得的项目支持有：新疆维吾尔自治区第三期天山英才计划培养人选项目（2021092）、新疆维吾尔自治区重大科技专项（2022A03007-2、2022A03019-3）、新疆维吾尔自治区专利转化项目（20230012）、2023年自治区中药产业发展专项资金项目（定制药园）。

（二）制定本标准的必要性

大蒜（*Allium sativum* L.）是百合科葱属植物，又名蒜、胡蒜等，是一种药食两用的植物。由于大蒜鳞茎中含有多种功能性成分，具有抗炎杀菌、抗氧化、抗癌、免疫调节、保护心脑血管等医疗保健功能，使其不仅能作为食品，还具有较高的药用价值，应用前景广阔。

科学研究已明确大蒜的活性成分为大蒜辣素（二烯丙基硫代亚磺酸酯， $C_6H_{10}OS_2$ ，CAS：539-27-24），新鲜无损大蒜中只有大蒜辣素的前体物质-蒜氨酸（S-烯丙基-L-半胱氨酸亚砷， $C_6H_{11}NO_3S$ ，CAS：539-86-6）及蒜酶，当大蒜细胞被破坏，液泡中的蒜酶裂解细胞质中蒜氨酸产生大蒜辣素，但大蒜辣素极不稳定，进一步降解成多种含硫化合物。因此，产生大蒜辣素的条件有三个，即：有蒜氨酸、有足够的活力的蒜酶、有水的条件。

目前，国内外大蒜药品或膳食补充剂产品，一类是以冻干蒜粉为原料的粗制剂，保留了大蒜所有成分，在体内释放大蒜辣素，但受制于原料中蒜氨酸含量，能够产生的大蒜辣素有限，美、英、欧盟等多国药典，以蒜氨酸及大蒜辣素为大蒜及制剂质量控制标准；另一类是以大蒜辣素降解产物大蒜素（二烯丙基三硫醚， $C_6H_{10}S_3$ ，CAS：2050-87-5）为主要原料，由于大蒜素可人工合成，鱼龙混杂，导致产品质量差异较大。

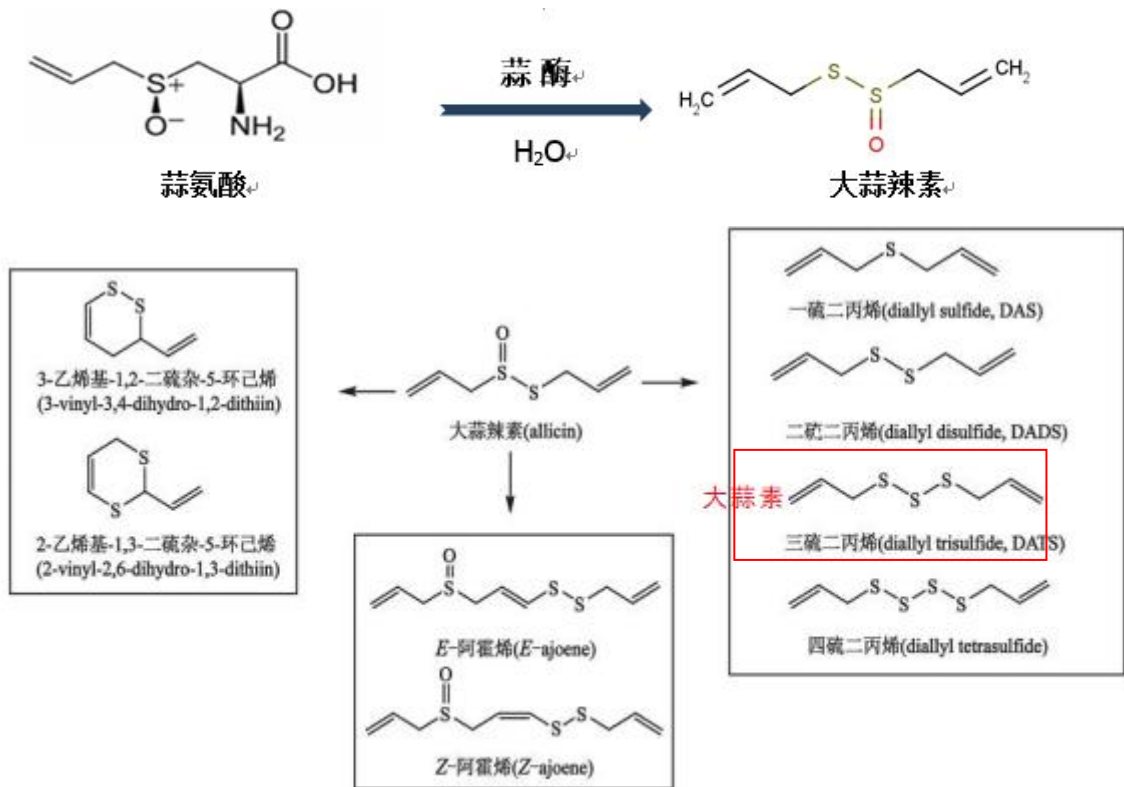


图 1 蒜氨酸/蒜酶的酶促反应及大蒜辣素降解产物

我国大蒜资源丰富，是全球最主要的大蒜生产国、消费国和出口国，市场前景广阔。但目前主要以销售新鲜大蒜和初级加工品大蒜粉为主，精深加工产品的总体水平还不太成熟，大蒜、脱水蒜片、蒜粒、蒜粉基本上全部出口到世界各地，被进一步加工成高附加值的系列产品，如保健食品、化妆品、饲料添加剂等几十种产品。国内外有几千篇文献的数据支持，药食两用食用历史保障其安全性和有效性。

新疆大蒜因活性成分含量高，被誉为“高蒜氨酸含量大蒜”，但目前主要以销售新鲜大蒜和初级加工品为主，精深加工产品的总体水平还不太成熟。因此大蒜的精深加工研究、大蒜粉及其制品的品质提升，可以加快大蒜产业向精细化和高附加值方向发展。

大蒜含水量高，储存不当易霉烂和变质，且休眠期短，易发芽、不易长时间贮藏。为了便于储存且方便运输，对大蒜进行脱水处理是最普遍的加工方法之一。其中，工业生产常用的大蒜脱水干燥方法为热风干燥和真空冷冻干燥，粉碎后得大蒜粉。通过该方式，可延长贮藏期，做到常年均

衡供应。但在干燥过程中，干燥方式、温度、时间等参数的控制可直接影响大蒜中活性成分蒜氨酸的含量及蒜酶的活力。

目前，大蒜粉在药品、保健食品、化妆品、饲料添加剂等行业广泛使用，其质控指标不一。《英国药典》、《欧盟药典》、《美国药典》均以蒜氨酸或潜在大蒜辣素作为大蒜粉的质量控制指标；在国内，除了本单位参与起草的 T/HAS 105-2020 《饲料原料 大蒜粉》明确以潜在大蒜辣素作为其质控指标并分级评价，尚无大蒜粉或以大蒜粉为原料的产品明确活性成分为质控指标的质量标准。中国农业行业标准 NY/T 2643-2014 《大蒜及制品中蒜素的测定 高效液相色谱法》、NY/T 3871-2021 《大蒜中蒜氨酸的测定 高效液相色谱法》仅规定了大蒜或其制品中蒜素、蒜氨酸的含量测定方法；其余大蒜粉的企业标准，只对感官特征、安全卫生项目、净含量、包装等进行控制，未涉及活性指标成分蒜氨酸及潜在大蒜辣素的质控。因此，生产企业和检测机构缺少统一的大蒜粉检测依据及产品质量控制指标的判定标准，不利于产业的健康发展。

因此，大蒜粉标准的制定，是大蒜产品现代化的需要，药品、保健食品、化妆品、饲料添加剂等深加工产品的原料需要。同时，与国际大蒜粉的质量评价标准接轨，统一使用以蒜氨酸、潜在大蒜辣素为指标成分对大蒜粉进行质量控制，可用于指导以大蒜粉为原料的药品、保健食品及其它相关制剂的生产企业进行原料收购，填补了国内空白，并科学指导新疆大蒜深初加工产业发展定位、药用与保健价值的开发利用方向，以标准引领新疆大蒜产业发展方向，推动乡村振兴。

表 1. 中、美、英/欧盟、印度药典及本标准中大蒜粉标准比较

名称	品名	质控指标	限度
美国药典 (USP42-NF37)	大蒜粉 (冻干蒜粉)	蒜氨酸、L- γ -谷氨酰 烯丙基半胱氨酸	蒜氨酸不得少于 0.3%、L- γ -谷氨 酰烯丙基半胱氨酸不得少于 0.1%
	大蒜提取物粉	蒜氨酸	不得少于 4.0%
英国/欧盟药典 (BP2019/EP9.0)	大蒜粉 (冻干蒜粉)	潜在大蒜辣素	不得少于 0.45%
《中国农业行业 标准》	大蒜及制品 (蒜粉、蒜片)	大蒜辣素的含量测定 方法	/
T/HAS 105-2020		潜在大蒜辣素	一级不得少于 1.4%，二级不得少

			于 1.2%，三级不得少于 0.8%
本标准	大蒜粉	蒜氨酸	一级不得少于 4.0%，二级不得少于 2.9%，三级不得少于 1.8%
		潜在大蒜辣素	一级不得少于 1.6%，二级不得少于 1.2%，三级不得少于 0.8%

(三) 主要工作过程

3.1 成立标准制定工作组

2022 年 12 月，由新疆胡蒜研究院（有限公司）牵头并提供标准立项工作经费，组成了《大蒜粉》标准编制工作组，成员有新疆医科大学、新疆胡蒜研究院（有限公司）、新疆大蒜药用研究重点实验室、新疆苏克天牧农业科技有限公司、新疆天山制药工业有限公司、新疆特丰药业股份有限公司、中国科学院新疆理化技术研究所、新疆维吾尔自治区药物研究所、新疆维吾尔自治区药品检验研究院、新疆维吾尔自治区标准化研究院、新疆天然药物活性组分与释药技术重点实验室；并邀请有关专家及技术人员参与讨论。

3.2 调研、资料收集

2023 年 1-2 月，在编制过程中查阅了大量的国内外相关文献资料，包括有关的法律、部门规定和环境标准，以及技术研究发展情况等。所有的文献资料都在本标准的编制过程中进行了有益的吸收和借鉴，形成标准草案稿。

3.3 组织成员讨论，确定标准制定的原则和技术路线

2023 年 3 月，为了使标准更具代表性和适用性，《大蒜粉》标准编制工作组的技术人员多次讨论标准的制定和实施，并做出项目的工作计划安排。

3.4 研究建立标准方法，进行标准化方法论证试验

2023 年 4 月，本方法标准编制组按照项目组讨论的意见，结合企业标准，研究建立了本标准的方法实验方案，并进行了测定验证试验工作。

3.5 编写标准征求意见稿和编制说明

2023 年 5 月，标准编制组进行了各实验室数据汇总和数理分析工作，

编写了《大蒜粉》标准（草案）和编制说明。

2023年9月上旬，召开研讨会，讨论标准草案，确定标准是否立项。

2023年9月中旬，修改标准草案，形成《征求意见稿》，并讨论标准征求意见稿。

2023年9月下旬，标准的《征求意见稿》广泛征求意见，形成《预审稿》。

2023年10月，预审形成《送审稿》，并组织召开标准送审稿的审查会。

2023年11月，按照终审会的意见和建议，对《送审稿》进行了修改完善，形成《报批稿》。

（四）主要参加单位、成员及各自所做的工作

主要参加单位：新疆医科大学、新疆胡蒜研究院（有限公司）、新疆大蒜药用研究重点实验室、新疆埃乐欣生物科技有限公司、新疆苏克天牧农业科技有限公司、新疆天山制药工业有限公司、新疆特丰药业股份有限公司、中国科学院新疆理化技术研究所、新疆维吾尔自治区药物研究所。

主要起草人：李新霞、史荣梅、刘睿婷、艾波、杜娟、云琦、朱伟英、吴涛、何江、常军民、王磊、肖赵辉、薛红瑞、苏晴。

新疆医科大学主要负责文献的查询及试验研究，新疆胡蒜研究院（有限公司）主要负责试剂、标准物质及标准文本和编制说明的编写，新疆大蒜药用研究重点实验室主要负责大蒜粉中蒜氨酸含量测定的方法学考察，新疆埃乐欣生物科技有限公司主要负责大蒜产品的市场调研，新疆苏克天牧农业科技有限公司主要负责大蒜粉原料的冻干，新疆特丰药业股份有限公司、新疆天山制药工业有限公司主要负责大蒜肠溶片原料信息汇总，中国科学院新疆理化技术研究所、新疆维吾尔自治区药物研究所主要负责大蒜相关产品信息资料汇总。

姓名	性别	职务/职称	工作单位	任务分工
李新霞	女	副院长/教授	新疆医科大学	标准技术负责人
史荣梅	女	研发副总/高级实验师	新疆胡蒜研究院（有限公司）	标准起草

刘睿婷	女	研发助理/高级实验师	新疆大蒜药用研究重点实验室	数据整理
艾波	男	副总/高级	新疆埃乐欣生物科技有限公司	样品提供
杜娟	女	QA/工程师	新疆苏克天牧农业科技有限公司	样品检测
云琦	男	研发副总/正高级工程师	新疆特丰药业股份有限公司	原料信息汇总
朱伟英	女	/	新疆天山制药工业有限公司	原料信息汇总
吴涛	男	主任/研究员	中国科学院新疆理化技术研究所	标准审核
何江	男	主任/研究员	新疆维吾尔自治区药物研究所	大蒜资源调查
常军民	男	院长/教授	新疆天然药物活性组分与释药技术重点实验室	试验指导
王磊	男	讲师/高级实验师	新疆医科大学	文献资料收集
肖赵辉	男	/	新疆医科大学	大蒜样品收集
薛红瑞	女	/	新疆特丰药业股份有限公司	产品信息收集
苏晴	女	/	新疆天山制药工业有限公司	产品信息收集

二、确定标准主要技术内容

1. 原料

大蒜：应无霉变，无虫蛀，无鼠咬，不得混有其他杂质，应符合《中华人民共和国药典》一部 2020 版、DB 65/T 4511-2022 高蒜氨酸含量大蒜质量评价规范的要求。见图 2。



图 2 原料-大蒜

2. 干燥方式

通过热风干燥（105℃、60℃）及冷冻干燥，比较大蒜粉中有效成分的含量。

表 2 不同干燥方式对大蒜粉中有效成分的影响（干燥品计）

项目/内容	鲜蒜	热风干燥（105℃）	热风干燥（65℃）	真空冷冻干燥
-------	----	------------	-----------	--------

外观性状	/	深黄色	黄色	淡黄色
水分 (%)	61.9	3.4	1.35	1.14
蒜氨酸 (%)	3.14	0.16	2.95	3.15
大蒜辣素 (%)	1.29	0.08	1.15	1.23

不同的干燥方式对大蒜粉中有效成分都会有影响。

3. 感官

检验方法：将本品置于白色托盘内，在自然光下观察其色泽、外观，嗅其气味。结果见表 3。

表 3 供试品感官检验结果

序号	供试品批号	色泽、外观	气味
1	江苏邳州大蒜粉	类白色粉末	微带蒜特有气味
2	山东金乡大蒜粉	类白色粉末	微带蒜特有气味
3	河南郑州大蒜粉	类白色粉末	微带蒜特有气味
4	新疆昭苏 75 团大蒜粉	类白色粉末	微带蒜特有气味
5	新疆昭苏种马场大蒜粉	类白色粉末	微带蒜特有气味
6	新疆新地乡大蒜粉	类白色粉末	微带蒜特有气味
7	新疆昌吉大有镇大蒜粉	类白色粉末	微带蒜特有气味
8	新疆拜城大蒜粉	类白色粉末	微带蒜特有气味
9	甘肃民乐大蒜粉	类白色粉末	微带蒜特有气味
10	新疆且末大蒜粉	类白色粉末	微带蒜特有气味
11	重庆巫溪大蒜粉	类白色粉末	微带蒜特有气味
12	重青海乐都大蒜粉	类白色粉末	微带蒜特有气味
13	云南大蒜粉	类白色粉末	微带蒜特有气味

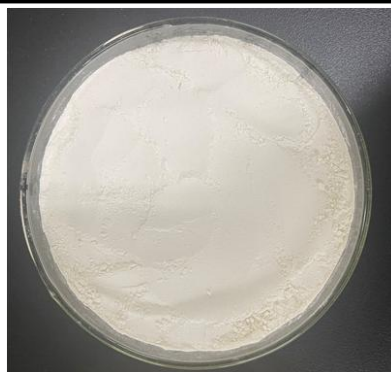


图 3 原料-大蒜粉

结果：13批大蒜粉供试品均为类白色或浅黄色粉末；微带蒜特有气味。

4. 理化指标

4.1 水分

大蒜粉极具引湿性，若大蒜粉水分含量过高，不仅可引起结块、霉变还会使活性成分蒜酶活力、蒜氨酸及大蒜辣素含量发生显著变化，因此需严格控制大蒜粉水分。故按《美国药典》、《欧盟药典》干燥失重法和GB/T GB 5009.3 食品汇总水分的测定第二法减压干燥法（60℃，0.53bar）的测定对大蒜粉含水量进行测定。《美国药典》、《欧盟药典》对大蒜粉水分限度有所要求，均为干燥失重不超过7.0%。收集国内大蒜主产区、新疆大蒜主产区等具代表性的13批大蒜进行冻干后，得大蒜粉，进行水分测定，确定水分的限度值。

表4 供试品水分检验结果 (n=2)

批号	W1 (g)	W2 (g)	W3 (g)	水分 (%)	平均值 (%)
江苏邳州大蒜粉	2.0076	77.3549	77.3541	1.34	1.30
	2.0046	77.6549	77.6542	1.26	
山东金乡大蒜粉	2.0023	79.0229	79.0223	2.37	2.39
	2.0071	67.5742	67.574	2.41	
河南郑州大蒜粉	2.0021	79.1008	79.0993	1.51	1.50
	2.0003	79.8400	79.8391	1.49	
新疆昭苏75团大蒜粉	2.0589	81.1537	81.1531	0.942	0.959
	2.0070	82.1521	82.1509	0.977	
新疆昭苏种马场大蒜粉	2.0023	80.7109	80.7101	2.23	2.23
	2.0045	79.7792	79.7784	2.23	
新疆新地乡大蒜粉	2.0090	69.4337	69.4332	1.49	1.54
	2.0117	77.2980	77.2972	1.58	
新疆昌吉大有镇大蒜粉	2.0435	76.9016	76.9008	1.70	1.64
	2.0389	79.3876	79.3865	1.58	
新疆拜城大蒜粉	2.0133	79.3559	79.3547	1.74	1.68
	2.0449	76.2579	76.2574	1.61	
甘肃民乐大蒜粉	1.9917	80.3059	80.3051	0.693	0.550
	2.0183	77.0896	77.0884	0.406	
新疆且末大蒜粉	2.1115	80.0668	80.0662	1.87	1.88
	1.9760	79.8155	79.8143	1.90	
重庆巫溪大蒜粉	2.0776	76.7300	76.7291	2.73	2.72
	2.0058	79.8234	79.8223	2.71	
青海乐都大蒜粉	2.0672	79.2705	79.2695	1.45	1.41

	2.0045	77.2980	77.2962	1.38	
云南大蒜粉	2.1018	77.3239	77.3223	1.59	1.60
	2.0573	74.4683	74.4666	1.62	

根据表 4，实测发现不同批次大蒜粉的水分存在差异。水分含量过高，易引起大蒜粉有效成分降低。为了更为准确、客观地反映大蒜粉质量，利于大蒜粉贮存，需规定大蒜粉的水分。根据以上结果，暂定大蒜粉中含水量不得过 5.0%。

4.2 总灰分

因大蒜原药材的采收、清洗加工过程可能带入泥沙等杂质，影响产品质量，故对其进行检查。取 13 批大蒜粉进行总灰分测定，确定总灰分的限度值。按照 GB 5009.4 测定大蒜粉供试品中总灰分的含量（%），结果见表 5。

表 5 供试品总灰分检验结果 (n=2)

批号	残渣及坩埚重 (g)	空坩埚重 (g)	供试品重 (g)	总灰分(%)	平均值(%)
江苏邳州大蒜粉	37.6215	37.5655	1.5056	3.72	3.70
	37.8900	37.8346	1.5025	3.69	
山东金乡大蒜粉	34.6075	34.5504	1.5010	3.80	3.80
	37.7737	37.7166	1.5006	3.81	
河南郑州大蒜粉	36.8995	36.8416	1.5031	3.85	3.84
	36.1225	36.0648	1.5048	3.83	
新疆昭苏 75 团大蒜粉	37.6384	37.5771	1.5042	4.08	3.98
	37.8999	37.8415	1.5034	3.88	
新疆昭苏种马场大蒜粉	34.6211	34.5533	1.5029	4.51	4.42
	37.7920	37.7269	1.5007	4.34	
新疆新地乡大蒜粉	36.9236	36.8466	1.5088	5.10	5.10
	36.1450	36.0683	1.5032	5.10	
新疆昌吉大有镇大蒜粉	39.2849	39.2257	1.5032	3.94	3.97
	36.2828	36.2227	1.5011	4.00	
新疆拜城大蒜粉	37.6506	37.5659	1.5015	5.64	5.56
	37.9205	37.8381	1.5020	5.49	
甘肃民乐大蒜粉	34.5997	34.5511	1.5005	3.24	3.25
	37.7672	37.7183	1.5026	3.25	
新疆且末大蒜粉	36.8877	36.8447	1.5005	2.87	2.87
	36.1087	36.0654	1.5056	2.88	
重庆巫溪大蒜粉	39.2763	39.2267	1.5014	3.30	3.32
	36.2680	36.2178	1.5085	3.33	
	39.2910	39.2273	1.5039	4.24	

青海乐都大蒜粉	39.2817	39.2214	1.5002	4.02	4.19
	36.1290	36.0627	1.5213	4.36	
云南大蒜粉	37.7665	37.7116	1.5240	3.60	3.68
	36.8952	36.8372	1.5406	3.76	

结论：根据以上结果，暂定大蒜粉的总灰分不超过 6.0%。

4.3 蒜氨酸

《美国药典》和《欧盟药典》都收载了大蒜粉及其制剂。其中，《美国药典》大蒜粉中蒜氨酸含量测定方法，采用 C18 色谱柱，以乙腈 -1, 4-二氧六环-四氢呋喃-0.045 mol/L 磷酸二氢钠溶液 (25 :2.9 :2.2 :69.9) 为流动相，供试品经灭酶、衍生化处理后再在 337 nm 下测定蒜氨酸含量。参照《DB 65/T 4511-2022 高蒜氨酸含量大蒜质量评价规范》标准内容，新疆胡蒜研究院（有限公司）建立蒜氨酸检测方法，采用 C18 色谱柱，以 0.06%三氟乙酸为流动相，供试品经微波灭酶处理后，直接在 214 nm 下测定蒜氨酸含量，此方法与美国药典方法测得蒜氨酸含量没有显著性差异，方法合理可行。按照新疆胡蒜研究院（有限公司）自建方法，取 13 批大蒜粉测定大蒜粉中蒜氨酸含量（%），结果见表 6。

表 6 国内不同产地大蒜粉中蒜氨酸含量测定结果 (n=3)

序号	产地	蒜氨酸 (%)	RSD (%)
1	江苏邳州大蒜粉	2.87	1.3
2	山东金乡大蒜粉	3.03	1.4
3	河南郑州大蒜粉	3.37	1.1
4	新疆昭苏 75 团大蒜粉	5.55	0.72
5	新疆昭苏种马场大蒜粉	4.61	1.7
6	新疆新地乡大蒜粉	4.19	0.53
7	新疆昌吉大有镇大蒜粉	3.45	1.0
8	新疆拜城大蒜粉	3.73	0.25
9	甘肃民乐大蒜粉	5.09	0.91
10	新疆且末大蒜粉	4.20	1.7
11	重庆巫溪大蒜粉	2.31	1.1
12	青海乐都大蒜粉	3.19	0.52
13	云南大蒜粉	2.82	0.98

结论：根据以上结果，按照大蒜粉不同用途，将其分为四级。一级大蒜粉蒜氨酸含量不得低于 5.0%；二级大蒜粉蒜氨酸含量 4.0%~5.0%；三级大蒜粉蒜氨酸含量 3.0%~4.0%；四级大蒜粉蒜氨酸含量低于 3.0%。

4.4 大蒜辣素

《美国药典》和《欧盟药典》都收录了大蒜粉及其制剂。《欧盟药典》(EP8.0)大蒜粉含量测定方法是以羟苯丁酯为内标,流动相为甲醇-1%甲酸(60:40),流速0.8 ml/min,进样量20 μ l,所以取13批不同产地的供试品,参照《欧盟药典》“大蒜粉”和《T/HAS 105-2020 饲料原料 大蒜粉》质量标准内容,采用高效液相色谱法测定大蒜冻干粉大蒜辣素含量,结果见表7。

表7 国内不同产地大蒜粉中大蒜辣素含量测定结果 (n=3)

序号	产地	潜在大蒜辣素 (%)	RSD (%)
1	江苏邳州大蒜粉	1.08	1.6
2	山东金乡大蒜粉	1.21	1.3
3	河南郑州大蒜粉	1.30	1.5
4	新疆昭苏75团大蒜粉	2.03	2.0
5	新疆昭苏种马场大蒜粉	1.81	0.55
6	新疆新地乡大蒜粉	1.64	1.7
7	新疆昌吉大有镇大蒜粉	1.41	0.78
8	新疆拜城大蒜粉	1.70	0.37
9	甘肃民乐大蒜粉	2.28	1.4
10	新疆且末大蒜粉	1.91	0.46
11	重庆巫溪大蒜粉	0.981	1.4
12	青海乐都大蒜粉	1.25	0.56
13	云南大蒜粉	1.41	0.88

结论:根据以上结果,按照大蒜粉不同用途,将其分为四级。一级大蒜粉大蒜辣素含量不得低于2.0%;二级大蒜粉大蒜辣素含量1.6%~2.0%;三级大蒜粉大蒜辣素含量1.2%~1.6%;四级大蒜粉大蒜辣素含量低于1.2%。

5. 微生物限量

按照GB 4789.2、GB 4789.3、GB 4789.4、GB 4789.10、GB 4789.15的规定,分别对13批大蒜粉中的菌落总数、大肠菌群、沙门氏菌、金黄色葡萄球菌、霉菌进行测定,结果见表8。

综上,本标准的制订及分级为大蒜粉原料按质论价提供依据,为未来大蒜衍生药品等参与国际竞争提供畅通渠道,建立与国际接轨的大蒜粉评价体系,科学定位新疆大蒜深加工产业的发展方向。

表 8 大蒜粉中微生物限度测定结果

批号	检验项目	单位	技术要求	检验结果	判定	
江苏邳州大蒜粉	微生物 指标	菌落总数	CFU/g	n=5, c=2, m=10 ³ , M=5*10 ⁴	150; 250; 150; 200; 350	符合规定
		大肠菌群	CFU/g	n=5, c=2, m=10, M=10 ²	<10; <10; <10; <10; <10	符合规定
		霉菌	CFU/g	≤50	<10	符合规定
	致病菌 指标	沙门氏菌	/	n=5, c=2, m=0/25g	0/25g; 0/25g; 0/25g; 0/25g; 0/25g	符合规定
		金黄色葡萄球菌	CFU/g	n=5, c=2, m=100, M=1000	<10; <10; <10; <10; <10	符合规定
		菌落总数	CFU/g	n=5, c=2, m=10 ³ , M=5*10 ⁴	100; 200; 150; 150; 100	符合规定
山东金乡大蒜粉	微生物 指标	大肠菌群	CFU/g	n=5, c=2, m=10, M=10 ²	<10; <10; <10; <10; <10	符合规定
		霉菌	CFU/g	≤50	<10	符合规定
		沙门氏菌	/	n=5, c=2, m=0/25g	0/25g; 0/25g; 0/25g; 0/25g; 0/25g	符合规定
	致病菌 指标	金黄色葡萄球菌	CFU/g	n=5, c=2, m=100, M=1000	<10; <10; <10; <10; <10	符合规定
		菌落总数	CFU/g	n=5, c=2, m=10 ³ , M=5*10 ⁴	50; 100; 100; 150; 50	符合规定
		大肠菌群	CFU/g	n=5, c=2, m=10, M=10 ²	<10; <10; <10; <10; <10	符合规定
河南郑州大蒜粉	微生物 指标	霉菌	CFU/g	≤50	<10	符合规定
		沙门氏菌	/	n=5, c=2, m=0/25g	0/25g; 0/25g; 0/25g; 0/25g; 0/25g	符合规定
		金黄色葡萄球菌	CFU/g	n=5, c=2, m=100, M=1000	<10; <10; <10; <10; <10	符合规定
	致病菌 指标	菌落总数	CFU/g	n=5, c=2, m=10 ³ , M=5*10 ⁴	250; 250; 150; 200; 150	符合规定
		大肠菌群	CFU/g	n=5, c=2, m=10, M=10 ²	<10; <10; <10; <10; <10	符合规定
		霉菌	CFU/g	≤50	<10	符合规定
新疆昭苏 75 团大 蒜粉	微生物 指标	沙门氏菌	/	n=5, c=2, m=0/25g	0/25g; 0/25g; 0/25g; 0/25g; 0/25g	符合规定
		金黄色葡萄球菌	CFU/g	n=5, c=2, m=100, M=1000	<10; <10; <10; <10; <10	符合规定
		菌落总数	CFU/g	n=5, c=2, m=10 ³ , M=5*10 ⁴	150; 100; 150; 150; 150	符合规定
	致病菌 指标	大肠菌群	CFU/g	n=5, c=2, m=10, M=10 ²	<10; <10; <10; <10; <10	符合规定
		霉菌	CFU/g	≤50	<10	符合规定
		沙门氏菌	/	n=5, c=2, m=0/25g	0/25g; 0/25g; 0/25g; 0/25g; 0/25g	符合规定
新疆昭苏种马场 大蒜粉	微生物 指标	金黄色葡萄球菌	CFU/g	n=5, c=2, m=100, M=1000	<10; <10; <10; <10; <10	符合规定
		菌落总数	CFU/g	n=5, c=2, m=10 ³ , M=5*10 ⁴	150; 100; 150; 150; 150	符合规定
		大肠菌群	CFU/g	n=5, c=2, m=10, M=10 ²	<10; <10; <10; <10; <10	符合规定
		霉菌	CFU/g	≤50	<10	符合规定

新疆新地乡大蒜粉	致病菌	沙门氏菌	/	n=5, c=2, m=0/25g	0/25g; 0/25g; 0/25g; 0/25g; 0/25g	符合规定
	指标	金黄色葡萄球菌	CFU/g	n=5, c=2, m=100, M=1000	<10; <10; <10; <10; <10	符合规定
	微生物	菌落总数	CFU/g	n=5, c=2, m=10 ³ , M=5*10 ⁴	50; 100; 50; 150; 50	符合规定
		大肠菌群	CFU/g	n=5, c=2, m=10, M=10 ²	<10; <10; <10; <10; <10	符合规定
		霉菌	CFU/g	≤50	<10	符合规定
新疆昌吉大有镇大蒜粉	致病菌	沙门氏菌	/	n=5, c=2, m=0/25g	0/25g; 0/25g; 0/25g; 0/25g; 0/25g	符合规定
	指标	金黄色葡萄球菌	CFU/g	n=5, c=2, m=100, M=1000	<10; <10; <10; <10; <10	符合规定
	微生物	菌落总数	CFU/g	n=5, c=2, m=10 ³ , M=5*10 ⁴	150; 100; 100; 150; 100	符合规定
		大肠菌群	CFU/g	n=5, c=2, m=10, M=10 ²	<10; <10; <10; <10; <10	符合规定
		霉菌	CFU/g	≤50	<10	符合规定
新疆拜城大蒜粉	致病菌	沙门氏菌	/	n=5, c=2, m=0/25g	0/25g; 0/25g; 0/25g; 0/25g; 0/25g	符合规定
	指标	金黄色葡萄球菌	CFU/g	n=5, c=2, m=100, M=1000	<10; <10; <10; <10; <10	符合规定
	微生物	菌落总数	CFU/g	n=5, c=2, m=10 ³ , M=5*10 ⁴	450; 300; 350; 300; 350	符合规定
		大肠菌群	CFU/g	n=5, c=2, m=10, M=10 ²	<10; <10; <10; <10; <10	符合规定
		霉菌	CFU/g	≤50	<10	符合规定
甘肃民乐大蒜粉	致病菌	沙门氏菌	/	n=5, c=2, m=0/25g	0/25g; 0/25g; 0/25g; 0/25g; 0/25g	符合规定
	微生物	菌落总数	CFU/g	n=5, c=2, m=10 ³ , M=5*10 ⁴	50; 100; 100; 100; 100	符合规定
		大肠菌群	CFU/g	n=5, c=2, m=10, M=10 ²	<10; <10; <10; <10; <10	符合规定
		霉菌	CFU/g	≤50	<10	符合规定
	新疆且末大蒜粉	致病菌	沙门氏菌	/	n=5, c=2, m=0/25g	0/25g; 0/25g; 0/25g; 0/25g; 0/25g
微生物		菌落总数	CFU/g	n=5, c=2, m=10 ³ , M=5*10 ⁴	150; 250; 150; 250; 250	符合规定
		大肠菌群	CFU/g	n=5, c=2, m=10, M=10 ²	<10; <10; <10; <10; <10	符合规定
		霉菌	CFU/g	≤50	<10	符合规定
致病菌		沙门氏菌	/	n=5, c=2, m=0/25g	0/25g; 0/25g; 0/25g; 0/25g; 0/25g	符合规定

指标						
重庆巫溪大蒜粉	微生物	菌落总数	CFU/g	n=5, c=2, m=10 ³ , M=5*10 ⁴	150; 100; 150; 100; 100	符合规定
	指标	大肠菌群	CFU/g	n=5, c=2, m=10, M=10 ²	<10; <10; <10; <10; <10	符合规定
		霉菌	CFU/g	≤50	<10	符合规定
	致病菌	沙门氏菌	/	n=5, c=2, m=0/25g	0/25g; 0/25g; 0/25g; 0/25g; 0/25g	符合规定
	指标	金黄色葡萄球菌	CFU/g	n=5, c=2, m=100, M=1000	<10; <10; <10; <10; <10	符合规定
青海乐都大蒜粉	微生物	菌落总数	CFU/g	n=5, c=2, m=10 ³ , M=5*10 ⁴	100; 100; 250; 150; 150	符合规定
	指标	大肠菌群	CFU/g	n=5, c=2, m=10, M=10 ²	<10; <10; <10; <10; <10	符合规定
		霉菌	CFU/g	≤50	<10	符合规定
	致病菌	沙门氏菌	/	n=5, c=2, m=0/25g	0/25g; 0/25g; 0/25g; 0/25g; 0/25g	符合规定
	指标	金黄色葡萄球菌	CFU/g	n=5, c=2, m=100, M=1000	<10; <10; <10; <10; <10	符合规定
云南大蒜粉	微生物	菌落总数	CFU/g	n=5, c=2, m=10 ³ , M=5*10 ⁴	250; 300; 150; 200; 150	符合规定
	指标	大肠菌群	CFU/g	n=5, c=2, m=10, M=10 ²	<10; <10; <10; <10; <10	符合规定
		霉菌	CFU/g	≤50	<10	符合规定
	致病菌	沙门氏菌	/	n=5, c=2, m=0/25g	0/25g; 0/25g; 0/25g; 0/25g; 0/25g	符合规定
	指标	金黄色葡萄球菌	CFU/g	n=5, c=2, m=100, M=1000	<10; <10; <10; <10; <10	符合规定

三、制定（修订）标准的原则和依据，与现行法律、法规、标准的关系

1. 标准编制遵循“先进性、实用性、统一性、规范性”的原则，符合国家现行法律法规及相关规定及要求，重点突出在外观，理化、蒜氨酸含量测定的指标上，并注重标准的可操作性。

2. 制定标准依据

编写格式依据 GB/T 1.1-2009 的规定而制定。根据我国现有标准体系引用相关要求，参考的安全要求。以下为参考和引用标准。

GB 2762 食品安全国家标准 食品中污染物限量

GB 2763 食品安全国家标准 食品中农药最大残留限量

GB 4789.1 食品安全国家标准 食品微生物学检验 总则

GB 4789.2 食品安全国家标准 食品微生物学检验 菌落总数测定

GB 4789.3 食品安全国家标准 食品微生物学检验 大肠菌落计数

GB 4789.4 食品安全国家标准 食品微生物学检验 沙门氏菌检验

GB 4789.10 食品安全国家标准 食品微生物学检验 金黄色葡萄球菌检验

GB 4789.15 食品安全国家标准 食品微生物学检验 霉菌和酵母计数

GB 5009.3 食品安全国家标准 食品中水分的测定

GB 5009.4 食品安全国家标准 食品中灰分的测定

GB 14881 食品生产通用卫生规范

T/HAS 105 饲料原料 大蒜粉

JJF 1070 定量包装商品净含量计量检验规则

国家质量监督检验检疫总局令（2005）第 75 号 定量包装商品计量监督管理办法

3. 与现有相关标准的关系

本标准为首次制定，是在参考了《中国药典》一部大蒜、DB 65/T 4511-2022 高蒜氨酸含量大蒜质量评价规范、T/HAS 105-2020 饲料原料大蒜粉、《美国药典》、《英国/欧盟药典》和《印度药典》等标准的基础上结合实际状况制定的，因此与现行法律、法规及强制性标准无冲突。

《英国药典》、《欧盟药典》、《美国药典》均以蒜氨酸或潜在大蒜辣素作为大蒜粉的质量控制指标；在国内，除了本单位参与起草的 T/HAS 105-2020 《饲料原料 大蒜粉》明确以潜在大蒜辣素作为其质控指标并分级评价，尚无大蒜粉或以大蒜粉为原料的产品明确活性成分为质控指标的质量标准。中国农业行业标准 NY/T 2643-2014 《大蒜及制品中蒜素的测定 高效液相色谱法》、NY/T 3871-2021 《大蒜中蒜氨酸的测定 高效液相色谱法》仅规定了大蒜或其制品中蒜素、蒜氨酸的含量测定方法；其余大蒜粉的企业标准，只对感官特征、安全卫生项目、净含量、包装等进行控制，未涉及活性指标成分蒜氨酸及潜在大蒜辣素的质控。

本标准的建立，以蒜氨酸或大蒜辣素同时作为质量控制指标，并根据大蒜粉的不同用途进行了分级，建立与国际接轨的大蒜粉评价体系。

四、重大意见分歧的处理依据和结果

暂无。

五、其他应予说明的事项

建议《大蒜粉》作为推荐性标准发布实施。首先，充分利用新疆优势大蒜资源，使大蒜粉能与国际有一个通用、互认的评价标准，更加准确、客观的反映大蒜粉的品质和药用的价值。其次，随着生活水平的提高和食品工业的升级，功能性食品中的营养成分与功能活性物质越来越受到消费者的关注与重视，为大蒜粉按质论价提供依据，对有些企业为追求利润最大化，将低含量大蒜粉或者掺假蒜粉制品销售给消费者，损害消费者的利益，为杜绝该类情况，制定蒜氨酸及潜在大蒜辣素指标大蒜粉的质量标准建立十分必要。

通过项目的实施，可以科学定位大蒜粉特色发展的方向，科学合理开展具有治疗和预防疾病价值的大蒜深加工技术研究，从而是大蒜深加工产业向特色化方向发展，推进乡村振兴，实现区域经济社会发展目标。

《大蒜粉》标准起草小组

2023年6月

T/

团 体 标 准

T/XXX XXXX—XXXX

大蒜粉

Garlic Powder

(征求意见稿)

在提交反馈意见时，请将您知道的相关专利连同支持性文件一并附上。

XXXX - XX - XX 发布

XXXX - XX - XX 实施

新疆维吾尔自治区质量协会 发布

目 次

前言	II
1 范围	3
2 规范性引用文件	3
3 术语和定义	3
4 技术要求	3
5 生成加工过程卫生要求	5
6 检验方法	5
7 检验规则	5
8 标志、包装、贮运	6
附录 A（规范性） 大蒜粉中蒜氨酸含量的测定	7

前 言

本文件按照GB/T 1.1—2020《标准化工作导则 第1部分：标准化文件的结构和起草规则》的规定起草。

请注意本文件的某些内容可能涉及专利。本文件的发布机构不承担识别专利的责任。

本文件由新疆胡蒜研究院（有限公司）提出。

本文件由新疆维吾尔自治区质量协会归口。

本文件起草单位：新疆医科大学、新疆胡蒜研究院（有限公司）、新疆大蒜药用研究重点实验室、新疆埃乐欣生物科技有限公司、新疆苏克天牧农业科技有限公司、新疆天山制药工业有限公司、新疆特丰药业股份有限公司、中国科学院新疆理化技术研究所、新疆维吾尔自治区药物研究所。

本文件主要起草人：李新霞、史荣梅、刘睿婷、艾波、杜娟、云琦、朱伟英、吴涛、何江、常军民、王磊、肖赵辉、薛红瑞、苏晴。

本文件实施应用中的疑问，请咨询新疆胡蒜研究院（有限公司）。

本文件的修改意见建议，请反馈至新疆维吾尔自治区质量协会（新疆乌鲁木齐市水磨沟区南湖北路街道东二巷华凌国际公寓10-1-2503）、新疆胡蒜研究院（有限公司）（新疆乌鲁木齐市高新区（新市区）北区工业园区源兴街351号）。

新疆维吾尔自治区质量协会联系电话：0991-4583319 邮编：830063

新疆胡蒜研究院（有限公司）联系电话：0991-3687862 传真：0991-3687862 邮编：830013

大蒜粉

1 范围

本文件规定了大蒜粉的生产技术要求、检验方法、检验规则、标签、包装、运输与贮存。
本文件适用于以大蒜为原料经干燥、粉碎而得的大蒜粉。

2 规范性引用文件

下列文件中的内容通过文中的规范性引用而构成本文件必不可少的条款。其中，注日期的引用文件，仅该日期对应的版本适用于本文件；不注日期的引用文件，其最新版本（包括所有的修改单）适用于本文件。

GB 2762 食品安全国家标准 食品中污染物限量
 GB 2763 食品安全国家标准 食品中农药最大残留限量
 GB 4789.1 食品安全国家标准 食品微生物学检验 总则
 GB 4789.2 食品安全国家标准 食品微生物学检验 菌落总数测定
 GB 4789.3 食品安全国家标准 食品微生物学检验 大肠菌落计数
 GB 4789.4 食品安全国家标准 食品微生物学检验 沙门氏菌检验
 GB 4789.10 食品安全国家标准 食品微生物学检验 金黄色葡萄球菌检验
 GB 4789.15 食品安全国家标准 食品微生物学检验 霉菌和酵母计数
 GB 5009.3 食品安全国家标准 食品中水分的测定
 GB 5009.4 食品安全国家标准 食品中灰分的测定
 GB 14881 食品生产通用卫生规范
 T/HAS 105 饲料原料 大蒜粉
 JJF 1070 定量包装商品净含量计量检验规则
 国家质量监督检验检疫总局令（2005）第75号 定量包装商品计量监督管理办法

3 术语和定义

请选择适当的引导语

3.1 大蒜粉 Garlic Powder

以大蒜为原料，经过分瓣、剥皮、挑选、清洗、干燥、粉碎、包装加工制成的大蒜粉。

3.2

蒜氨酸 Alliin S-烯丙基-L-半胱氨酸亚砜 (S-allyl-L-cysteine sulfoxide)，分子式为 $C_6H_{11}NO_3S$ ，CAS#: 556-27-4，相对分子质量为 177.22。

3.3

大蒜辣素 Allicin 二烯丙基硫代亚磺酸酯 (diallyl thiosulfinate)，分子式为 $C_6H_{10}OS_2$ ，CAS#: 539-86-6，相对分子质量为 162.27。

4 技术要求

4.1 原料

大蒜：应无霉变，无虫蛀，无鼠咬，不得混有其他杂质。安全性评价指标中污染物限量、农药残留应符合 DB 65/T 4511 高蒜氨酸含量大蒜质量评价规范的要求。

4.2 感官要求

应符合表 1 的规定。

表 1 感官要求

项 目	要 求
色泽	类白色或淡黄色粉末
气味、滋味	具有固有的气味和滋味，无异味
组织形态	呈均匀状干燥粉末，无结块
杂质	无肉眼可见的外来杂质

4.3 理化指标

应符合表 2 的规定。

表 2 理化指标

项 目	指 标			
	一级	二级	三级	四级
粒度	60-100目			
水分/ (g/100g)	≤5.0			
总灰分/ (g/100g)	≤6.0			
蒜氨酸 (干燥品计) (g/100g)	≥5.0	4.0~5.0	3.0~4.0	<3.0
大蒜辣素 (干燥品计) (g/100g)	≥2.0	1.6~2.0	1.2~1.6	<1.2

4.4 微生物指标

应符合表 3 的规定。

表 3 微生物指标

项 目	限 量			
	n	c	m	M
菌落总数/ (CFU/g)	5	2	1000	50000
大肠菌群/ (CFU/g)	5	2	10	100
沙门氏菌/ (CFU/g)	5	0	0/25g	-
金黄色葡萄球菌/ (CFU/g)	5	1	100	950
霉菌/ (CFU/g)	≤50			

4.5 净含量及允许短缺量

应符合国家市场监督管理总局令 (2023) 第 70 号《定量包装商品计量监督管理办法》的规定。

4.6 安全性评价指标

4.6.1 污染物限量指标

应符合表4的规定。

表 4 污染物限量指标

项目	指标
铅	≤0.1 mg/kg
镉	≤0.1 mg/kg
总砷	≤0.5 mg/kg

项目	指标
总汞	≤0.01 mg/kg
铬	≤0.5 mg/kg

4.6.2 农药残留量限量指标

应符合GB 2763的规定。

4.7 本产品未添加任何食品添加剂。

5 生成加工过程卫生要求

应符合 GB 14881 的规定。

6 检验方法

6.1 感官检查

将被测样品放置于洁净的白瓷盘中，用肉眼直接观察色泽、形态和杂质，嗅其气味，品尝滋味。

6.2 理化指标

6.2.1 水分

按照 GB 5009.3 第二法减压干燥法规定的方法测定。

6.2.2 总灰分

按照 GB 5009.4 规定的方法测定。

6.2.3 蒜氨酸

按照附录 A 的测定方法测定。

6.2.4 大蒜辣素

按照 T/HAS 105 的测定方法测定。

6.3 微生物指标

6.3.1 样品的采样及处理

按GB 4789.1规定的方法执行。

6.3.2 沙门氏菌

按GB 4789.4规定的方法测定。

6.3.3 金黄色葡萄球菌

按GB 4789.10中的第二法测定。

6.3.4 菌落总数

按GB 4789.2中规定的方法测定。

6.3.5 大肠杆菌

按GB 4789.3中的平板计数法测定。

6.3.6 霉菌

按GB 4789.15规定的方法测定。

6.4 净含量

按JJF 1070 中规定的方法测定。

6.5 污染物限量、农药残留限量

6.5.1 污染物限量

按 GB 2762 的规定。

6.5.2 农药残留量

按GB 2763的规定。

7 检验规则

7.1 组批和抽样

7.1.1 组批

同一生产日期和班组生产的相同规格、同样包装的同一产品为同一批次。

7.1.2 抽样

每批产品中随机抽取12个最小独立包装（总净含量不少于500g），样品分成2份，1份检验，1份备查。

7.2 出厂检验

7.2.1

每批产品应经公司质检部门检验合格，并提供出厂检验合格证或者其他合格证明文件方可出厂。

7.2.2

出厂检验项目为感官要求、水分、蒜氨酸、潜在大蒜辣素、菌落总数、大肠菌群和净含量。

7.3 型式检验

7.3.1 型式检验为本文件 6.2-6.4 的全部项目。

7.3.2 一般情况下，每年需对产品进行一次型式检验。发生下列情况之一时，应进行型式检验：

- a) 新产品投产前；
- b) 原料、工艺发生较大变化时；
- c) 停产3个月以上（包括3个月）再恢复生产时；
- d) 出厂检验结果与上次型式检验结果有较大差别时；
- e) 国家执法监督机构提出进行型式检验要求时。

7.4 判定规则

7.4.1 检验结果全部项目符合本文件规定时，批该批产品为合格品。

7.4.2 理化指标如有不合格项目，应从该批产品中加倍抽取样品复检，若复检结果仍有一项指标不合格，则判定该批产品不合格。

7.4.3 微生物限量指标有一项不合格，则判该产品不合格，且不得复检。

8 标志、包装、贮运

8.1 标签标识

定型包装的标签应标明厂名、厂址、生产日期、规格、联系方式、保质期等内容，其他内容应符合GB 7718及国家相关规定的要求。产品的外包装箱标志：应符合GB/T 191的规定。

8.2 包装

包装材料采用塑料或铝塑复合袋装，规格为5kg/袋或按客户需求制定。

8.3 运输

运输工具必须清洁卫生，不得与有毒、有害物品混装混运。在运输过程中严禁日晒、雨淋、防压，装卸车时不得抛甩。

8.4 贮存

产品应贮存在干燥、通风清洁的仓库中，不得露天堆放，严禁与有毒有害物品混贮。常温产品不得接触墙面或地面，离墙、离地面应在20 cm以上。

8.5 保质期

产品在本标准规定的条件下贮存、运输，产品自生产日期之日起保质期为24个月。

附 录 A
(规范性)
大蒜粉中蒜氨酸含量的测定

A.1 范围

适用于药品、保健食品、食品及其他大蒜相关产品中原料大蒜粉的蒜氨酸含量的测定。

A.2 原理

在相同的液相色谱条件下，试样溶液与蒜氨酸标准溶液的蒜氨酸保留时间一致。采用外标一点法以峰面积计算蒜氨酸的含量。

A.3 试剂和材料

蒜氨酸标准物质：纯度 $\geq 99.0\%$ 。

甲醇（色谱纯）。

甲醇（分析纯）。

三氟乙酸（色谱纯）。

A.4 仪器和设备

高效液相色谱仪：配备紫外检测器。

电子分析天平：感量0.1 mg、感量0.01 mg。

离心机：8000 r/min。

超声仪。

A.5 参考色谱条件

耐水液相色谱柱：以十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂，粒径3 μm 。

流动相：三氟乙酸溶液（4.2）。

流速：0.5 mL/min。

进样量：10 μL 。

柱温：25 $^{\circ}\text{C}$ 。

检测波长：214 nm。。

A.6 分析步骤**A.6.1 标准溶液配制**

蒜氨酸标准储备液（200 mg/L）：称取蒜氨酸标准物质0.020 g（精确至0.00001 g）置于100 mL容量瓶中，用水溶解，稀释定容至刻度，摇匀，4 $^{\circ}\text{C}$ 保存，有效期1个月。

临用前，精密量取贮备液1 mL，置10 mL量瓶中，加水稀释至刻度，摇匀，色谱分析前用0.22 μm 微孔滤膜过滤。

A.6.2 7 样品及试样前处理

称取大蒜粉0.3 g（精确至0.1 mg）置于50 mL容量瓶中，加无水甲醇20 mL，超声10 min，加水20 mL，超声10 min，放至室温，用水稀释定容至刻度，混匀，离心（8000 r/min）10 min，吸取上清液1 mL，置于10 mL容量瓶中，用水定容至刻度，摇匀。色谱分析前用0.22 μm 微孔滤膜过滤。

A.7 系统适用性试验

A.7.1 对分离度溶液进行色谱分析，蒜氨酸的分离度 $R \geq 1.5$ 。

A.7.2 对标准溶液进行色谱分析，重复进样次数至少2次，检测所得结果的相对标准偏差 $\leq 2.0\%$ 。

A.8 测定

参考色谱条件下，分别对标准溶液和试样溶液进行测定，记录所得的标准溶液中的蒜氨酸面积和试样溶液中蒜氨酸峰面积。

A.9 计算结果

蒜氨酸含量（以干燥品计算）的质量分数 ω_1 ，按式（A.1）计算：

$$\omega_1 = \frac{A_x \times C_s \times D}{A_s \times W \times (100 - \omega) \times 1000} \times 100 \quad (\text{A.1})$$

式中：

D——试样的稀释倍数，为500；

A_x ——试样溶液中蒜氨酸峰面积值；

C_s ——标准溶液的浓度，单位为毫克每毫升（mg/mL）；

A_s ——标准溶液中蒜氨酸峰面积值；

W——试样的取样量，单位为克（g）；

ω ——试样的水分含量，单位为克每百克（g/100 g）。

试验结果以平行测定结果的算术平均值为准。

A.10 精密度

在重复性条件下获得的两次独立测定结果的相对标准偏差 $\leq 2\%$ 。

A.11 蒜氨酸 HPLC 参考色谱图

蒜氨酸HPLC色谱图见图A.1。

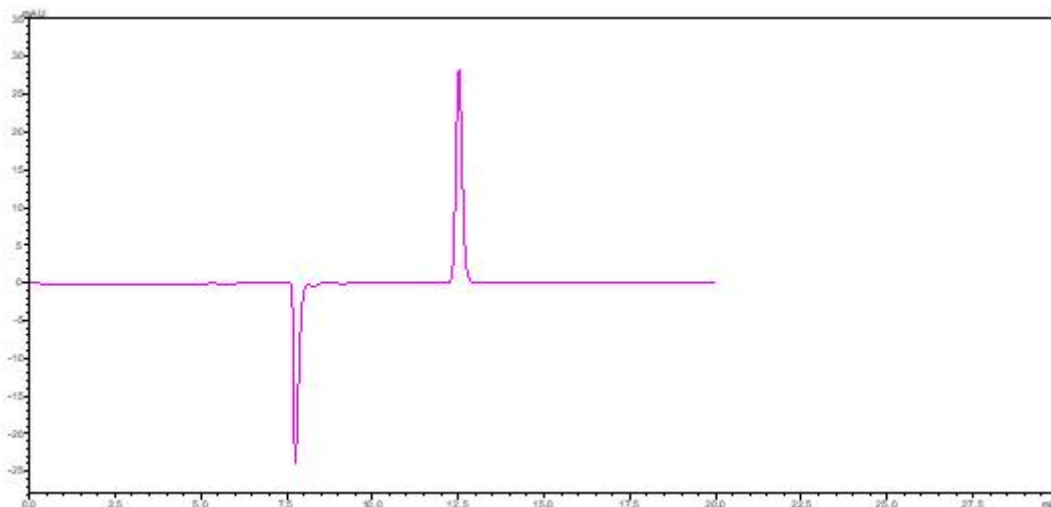


图 A.1 蒜氨酸标准物质 HPLC 色谱图

A.12 大蒜粉中蒜氨酸 HPLC 色谱图

大蒜粉中蒜氨酸HPLC色谱图见图A.2。

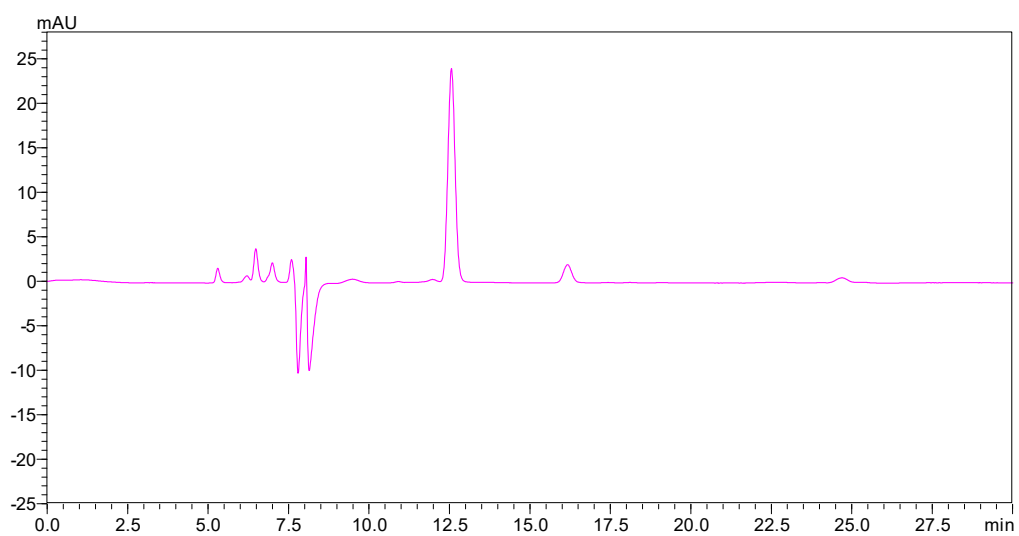


图 A.2 大蒜粉中蒜氨酸 HPLC 色谱图

A.13 空白溶剂 HPLC 色谱图

空白溶剂HPLC色谱图见图A.3。

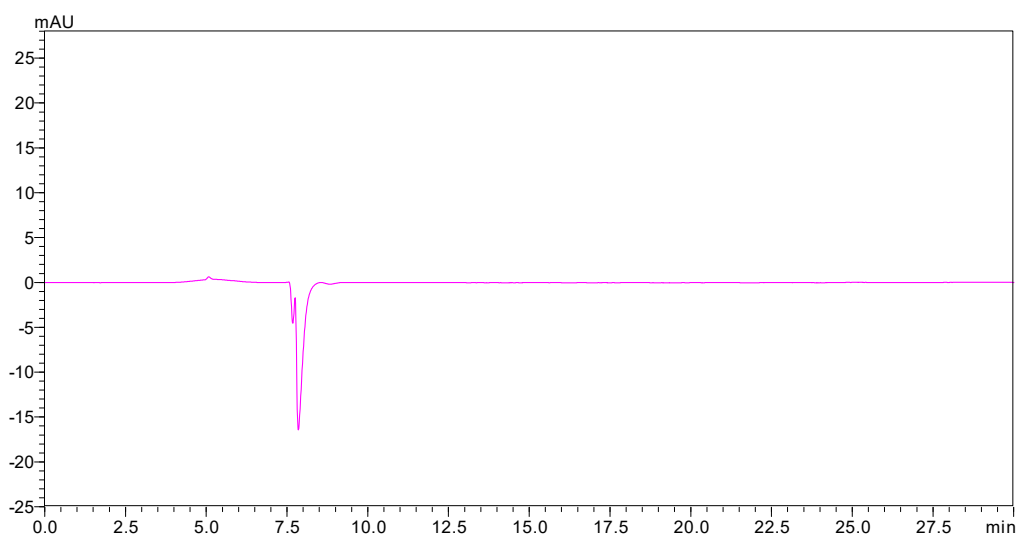


图 A.3 空白溶剂 HPLC 色谱图

参 考 文 献

- [1] T/HAS 105 饲料原料 大蒜粉。
 - [2] DB 65/T 4511 高蒜氨酸含量大蒜质量评价规范。
 - [3] 赵东升, 史荣梅, 陈尚珂, 等. 《中华人民共和国药典》大蒜标准中含量测定的商榷[J]. 医药导报, 2016, 35 (10) : 1117-1120.
 - [4] 陈坚, 李新霞, 等. 《药用大蒜》[M]. 乌鲁木齐: 新疆科学技术出版社, 2023.
-

团体标准《大蒜及其制品中蒜氨酸的测定 高效液相色谱法》编制说明

一、工作简况

（一）任务来源

任务来源于自选。

获得的项目支持有：新疆维吾尔自治区重大科技专项(2022A03007-2、2022A03019-3)、新疆维吾尔自治区专利转化项目(20230012)、2023年自治区中药产业发展专项资金项目(定制药园)。

（二）制定本标准的必要性

大蒜(*Allium Sativum* L.)，是历史悠久的药食两用植物。中国是世界最大的大蒜生产国，大蒜作为农产品常年出口。而在欧美，大蒜除普通食用外，很大部分用作药品、替代药品及食品补充剂的原料，还作为替代畜用抗菌素的动物饲料添加剂。近年，随着公众自主健康意识及希望“寻找更加温和、天然的产品”的意识增强，大蒜及其制品成为了热销的单成分草药保健品(膳食补充剂)。

大蒜的主要化学成分有含硫有机化合物和皂苷类，其特征性含硫化合物为蒜氨酸(S-烯丙基-L-半胱氨酸亚砷， $C_6H_{11}NO_3S$)及蒜酶催化裂合蒜氨酸产生的大蒜辣素(二烯丙基硫代亚磺酸酯， $C_6H_{10}OS_2$)。蒜氨酸、大蒜辣素是国际上公认的大蒜活性物质。大蒜辣素不稳定，进一步分解为多种脂溶性化合物，大蒜素(二烯丙基三硫醚， $C_6H_{10}S_3$)是大蒜辣素的降解产物之一。因此，作为大蒜辣素的前体物质，大蒜中蒜氨酸的含量可在一定程度上体现大蒜及其制品的活性。

大蒜及其制品在药品、保健食品、化妆品、饲料添加剂等行业均有相关标准，但其质控指标的检测方法不一。

1. 药典标准

药典名称	品名	质控指标	备注
美国药典	大蒜	蒜氨酸、L-γ-谷氨酰烯丙基半胱氨酸	
	大蒜粉 (冻干蒜粉)	蒜氨酸、L-γ-谷氨酰烯丙基半胱氨酸	蒜氨酸的检测, 样品需要进行衍生化, 所用衍生化试剂叔丁基硫醇, 臭鼬皮气味, 易燃、中毒, 刺激性大, 易造成环境污染
	大蒜提取物粉	蒜氨酸	
	大蒜流浸膏	蒜氨酸	
	大蒜迟释片	蒜氨酸和潜在大蒜辣素	应为标示量的 90%-140%
英国/欧盟药典	大蒜粉(冻干蒜粉)	潜在大蒜辣素	以羟苯丁酯为内标测定
印度药典	大蒜	蒜氨酸	蒜氨酸的检测, 样品在热水中研碎, 过滤 鲜蒜中不存在的大蒜素。大蒜作为药材, 1977 年开始收载于《中国药典》, 2010 版、2015 版、2020 版《中国药典》均规定大蒜的指标成分为大蒜素。
中国药典	大蒜	大蒜素	

(1) 《中国药典》收载大蒜药材情况

《中国药典》1977 年版收载的大蒜药材标准中无含量测定项, 2015 年版《中国药典》一部大蒜标准中收载含量测定项目, 并且要求测定指标成分为大蒜素(二烯丙基三硫醚, $C_6H_{10}S_3$), 含量按干燥品计不少于 0.15%。大蒜中提取大蒜素含量随样品提取的温度、提取溶剂极性的不同而存在一定差异, 为大蒜油的组成成分之一。高燕等采用《中国药典》规定的方法测定全国不同地区 21 个批次大蒜中大蒜素的含量, 均不符合《中国药典》要求。

(2) 国外药典收载大蒜药材情况

美、英、欧盟等多国药典中均收载了大蒜及相关制品, 并规定了以柱前衍生化法, 采用高效液相梯度洗脱, 测定蒜氨酸(S-烯丙基-L-半胱氨酸亚砷, $C_6H_{11}NO_3S$) 的含量。缺点: 该方法中的柱前衍生化用到了衍生化试剂叔丁基硫醇, 该试剂臭鼬皮气味, 易燃、中毒, 刺激性大, 易造成环境污染。

2. 中国部颁标准

WS-10001-(HD-0052)-2002《大蒜肠溶片》，规定了蒜氨酸含量的高效液相色谱测定法。该方法以蒜氨酸标准品与蒜酶原料药反应生成的大蒜辣素为对照，根据供试品水溶液中大蒜辣素的生成量，反推样品中蒜氨酸的含量。缺点：需要用到蒜酶原料药；同时，蒜氨酸与蒜酶反应生成大蒜辣素，属于酶促反应，受反应体系中 pH 值、反应温度、底物量、底物浓度、激活剂、抑制剂、反应时间、产物浓度等的影响，重现性差。以此反推试样中的蒜氨酸含量，较难得到准确结果。

3. 行业标准

序号	标准号	标准名称	适用范围	备注
1	NY/T 1800-2009	大蒜及制品中大蒜素的测定 气相色谱法	大蒜及制品（蒜粉、蒜片、蒜油）中大蒜素类硫醚化合物（二烯丙基三硫醚、二烯丙基二硫醚）含量的测定	大蒜素以二烯丙基三硫醚、二烯丙基二硫醚为代表，不能体现大蒜中的指标性成分
2	NY/T 2643-2014	大蒜及制品中蒜素的测定 高效液相色谱法	大蒜及制品（蒜粉、蒜片）中蒜素的含量测定	此测定指标与美、英/欧盟各国对大蒜粉中质控成分“潜在大蒜辣素”一致。 该标准采用了大蒜辣素（Allicin）为对照品，而大蒜辣素极其不稳定，对照品需国外订购，其储备液需-70℃以下冷冻保存，因此对测定结果带来不确定性。
3	NY/T 3871-2021	大蒜中蒜氨酸的测定 高效液相色谱法	大蒜中蒜氨酸的含量测定	此测定指标与美国、印度药典中对大蒜质控成分“蒜氨酸”一致。 该标准采用并优化了印度药典中大蒜的蒜氨酸含测方法，以蒜氨酸为对照品，以 0.01%磷酸水溶液为流动相，进行含量测定
4	NY/T 4351-2023	大蒜及其制品中水溶性有机硫化合物的测定 液相色谱-串联质谱法	大蒜、蒜片及蒜粉中蒜氨酸、GSMC、GSAC、SMC、SAC、SPC 的含量测定	需用到配有电喷雾离子源的液相色谱-串联质谱仪，该仪器普及率很低且使用费用高。

(1) 中国农业行业标准 NY/T 1800-2009《大蒜及制品中大蒜素的测

定 气相色谱法》

规定了大蒜及制品（蒜粉、蒜片、蒜油）中大蒜素类硫醚化合物（二烯丙基三硫醚（DATS, $C_6H_{10}S_3$ ）、二烯丙基二硫醚（DADS, $C_6H_{10}S_2$ ）含量的气相色谱测定方法。缺点：大蒜素以二烯丙基三硫醚、二烯丙基二硫醚为代表，不能体现大蒜中的指标性成分。

（2）中国农业行业标准 NY/T 2643-2014《大蒜及制品中蒜素的测定 高效液相色谱法》规定了大蒜及制品（蒜粉、蒜片）中蒜素（二烯丙基硫代亚磺酸酯, $C_6H_{10}OS_2$ ）含量的高效液相色谱法，此测定指标，与美国、英国/欧盟各国对大蒜粉中质控成分“潜在大蒜辣素”一致。缺点是大蒜辣素标准品需国外订购，且不稳定其储备液需 $-70^{\circ}C$ 以下冷冻保存，因此对测定结果带来不确定性。

（3）中国农业行业标准 NY/T 3871-2021《大蒜中蒜氨酸的测定 高效液相色谱法》参考并优化了印度药典中大蒜的蒜氨酸含量测定方法，但仅规定了大蒜中蒜氨酸的含量测定方法。

（4）中国农业行业标准 NY/T 4351-2023《大蒜及其制品中水溶性有机硫化合物的测定 液相色谱-串联质谱法》规定了大蒜及其制品中蒜氨酸等的含量测定，但需用到配有电喷雾离子源的液相色谱-串联质谱仪，该仪器普及率很低且使用费用高。

4. 地方标准

（1）DB 43/313-2006《茶陵紫皮大蒜》，由湖南省质量技术监督局发布。规定了茶陵紫皮大蒜蒜球质量的分等分级。其中，规定鲜蒜头中大蒜素（二烯丙基三硫醚, $C_6H_{10}S_3$ ）含量 $\geq 0.35\%$ 。缺点：大蒜素以二烯丙基三硫醚、二烯丙基二硫醚为代表，不能体现大蒜中的指标性成分。

（2）DB 65/T 4511-2022《高蒜氨酸含量大蒜质量评价规范》，由新疆维吾尔自治区市场监督管理局发布。仅规定了大蒜中蒜氨酸的含量测定方法。

5. 团体标准

T/HAS 105-2020《饲料原料 大蒜粉》，由河南省标准化协会发布。

规定了以大蒜为原料获得的饲料原料大蒜粉中潜在大蒜辣素(二烯丙基硫代亚磺酸酯, $C_6H_{10}OS_2$) 的含量及检测方法。

因此,生产企业和监督检查等检测机构缺少统一的、适用性强的检测方法。本标准中大蒜及其制品中蒜氨酸的检测方法的建立,首先与国际检测的评价标准接轨,统一使用蒜氨酸为指标成分对大蒜及其制品进行质量控制,不仅可以为大蒜及其制品的“按质论价”提供依据,还可以保障市场的公平竞争和消费者的权益及人民的身体健康,同时,还推动现行大蒜相关标准与时俱进,与国际接轨,促进产业升级和技术创新,服务于大健康产业。

(三) 主要工作过程

1. 成立标准制定工作组

2022年12月,由新疆胡蒜研究院(有限公司)牵头并提供标准立项工作经费,组成了《大蒜粉》标准编制工作组,成员有新疆胡蒜研究院(有限公司)、新疆医科大学、新疆大蒜药用研究重点实验室、新疆天然药物活性组分与释药技术重点实验室、新疆维吾尔自治区药物研究所、中国科学院新疆理化技术研究所、新疆维吾尔自治区药品检验研究院、新疆维吾尔自治区标准化研究院;并邀请有关专家及技术人员参与讨论。

2. 调研、资料收集

2023年1-2月,在编制过程中查阅了大量的国内外相关文献资料,包括有关的法律、部门规定和环境标准,以及技术研究发展情况等。所有的文献资料都在本标准的编制过程中进行了有益的吸收和借鉴,形成标准草案稿。

3. 组织成员讨论,确定标准制定的原则和技术路线

2023年3月,为了使标准更具代表性和适用性,《大蒜及其制品中蒜氨酸的测定 高效液相色谱法》标准编制工作组的技术人员多次讨论标准的制定和实施,并做出项目的工作计划安排。

4. 研究建立标准方法,进行标准化方法论证试验

2023年4月,本方法标准编制组按照项目组讨论的意见,结合企业

标准，研究建立了本标准的方法实验方案，并进行了测定验证试验工作。

5. 编写标准征求意见稿和编制说明

2023年5月，标准编制组进行了各实验室数据汇总和数理分析工作，编写了《大蒜及其制品中蒜氨酸的测定 高效液相色谱法》标准（草案）和编制说明。

2023年9月上旬，召开研讨会，讨论标准草案，确定标准是否立项。

2023年10月中旬，修改标准草案，形成《征求意见稿》，并讨论标准征求意见稿。

2023年11月上旬，标准的《征求意见稿》广泛征求意见，形成《预审稿》。

2023年11月，预审形成《送审稿》，并组织召开标准送审稿的审查会。

2023年12月，按照终审会的意见和建议，对《送审稿》进行了修改完善，形成《报批稿》。

（四）主要参加单位、成员及各自所做的工作

主要参加单位：新疆胡蒜研究院（有限公司）、新疆医科大学、新疆大蒜药用研究重点实验室、新疆天然药物活性组分与释药技术重点实验室、新疆维吾尔自治区药物研究所、中国科学院新疆理化技术研究所、新疆维吾尔自治区药品检验研究院、新疆维吾尔自治区标准化研究院。

主要起草人：史荣梅、刘睿婷、宋百灵、李新霞、马雪红、李兰兰、肖文浚、张春子、赵荣梅、胡小明、陈丽、郑瑞芳、刁娟娟、李莎莎、张露。

新疆医科大学、新疆天然药物活性组分与释药技术重点实验室主要负责文献的查询及试验研究，新疆胡蒜研究院（有限公司）主要负责试剂、标准物质及标准文本和编制说明的编写，新疆大蒜药用研究重点实验室负责大蒜粉中蒜氨酸含量测定的方法学考察，中国科学院新疆理化技术研究所、新疆维吾尔自治区药物研究所、新疆维吾尔自治区药品检验研究院主要负责大蒜相关产品信息资料汇总，新疆标准化研究院主要负责标准文本

和编制说明的指导。

姓名	性别	职务/职称	工作单位	任务分工
史荣梅	女	研发副总/高级实验师	新疆胡蒜研究院(有限公司)	标准起草
刘睿婷	女	研发助理/高级实验师	新疆大蒜药用研究重点实验室	标准起草
宋百灵	女	研发助理	新疆胡蒜研究院(有限公司)	标准起草
李新霞	女	副院长/教授	新疆医科大学	标准技术负责人
马雪红	女	实验师	新疆医科大学	样品检测
李兰兰	女	/	新疆医科大学	样品检测
肖文浚	女	总经理	新疆胡蒜研究院(有限公司)	标准组织协调
张春子	女	助理实验师	新疆胡蒜研究院(有限公司)	样品检测
赵荣梅	女	副高	新疆维吾尔自治区药品检验研究所	大蒜产品信息
胡小明	男	主任/正高	自治区标准化研究院	标准格式审核
陈丽	女	主任/研究员	中国科学院新疆理化技术研究所	标准格式审核
郑瑞芳	女	主任/研究员	新疆维吾尔自治区药物研究所	标准审核
李莎莎	女	/	新疆医科大学	样品检测
张露	女	/	新疆医科大学	样品检测

二、确定标准主要技术内容

(一) 主要条款说明

本标准制定了大蒜及其制品中蒜氨酸含量测定的技术要求、检验方法等内容。对大蒜及其制品的样品进行前处理考察，对大蒜及其制品中蒜氨酸含量测定方法进行方法学验证。

1. 仪器与试剂

(1) 仪器

高效液相色谱仪(LC-2030C 3D Plus, 岛津; LC-20AB, 岛津), 色谱柱(岛津 GIST AQ-C18 (4.6×250 mm, 3 μm); 岛津 AQ-C18 (4.6×250 mm, 5 μm); 依利特 ODS-C18 (4.6×250 mm, 5 μm); Agilent ZORBAX Bonus-RP (4.6 mm×250 mm, 5 μm)), 电子天平(梅特勒, AB-135S; 梅特勒, ME-204E), 超声波清洗仪(昆山市超声仪器有限公司, KQ-200KDE),

艾柯超纯水仪 (Exceed-E-UV, 成都唐氏康宁科技发展有限公司), 离心机 (上海安亭科学仪器厂, TGL-20bR), 磁力搅拌水浴锅 (常州金坛良友仪器有限公司, SHJ-6AB)。

(2) 试剂

蒜氨酸对照品 (新疆埃乐欣药业, 批号: AL210716); 甲醇 (Sigma, 色谱纯); 甲醇 (福晨 (天津) 化学试剂有限公司, 分析纯, 批号: 20230105); 三氟乙酸 (成都市科隆化学品有限公司, 色谱纯, 批号: 2022112501); 无水乙醇 (天津市北联精细化学品开发有限公司, 批号: 20180420, 分析纯); 羧甲基羟胺半盐酸盐 (上海源叶生物科技有限公司, S45557); 超纯水, 大蒜、大蒜粉、大蒜软膏 (新疆胡蒜研究院 (有限公司))。

2. 大蒜及其制品前处理考察

(1) 色谱条件

美国药典: Agilent ZORBAX Bonus-RP (4.6 mm×250 mm, 5 μm); 流动相: A: 乙腈; B: 0.045 mol/mL 的磷酸缓冲液-1, 4-二氧六环-四氢呋喃 (93:4:3); 流速: 1.0 mL/min; 检测波长: $\lambda_1=331$ nm, $\lambda_2=397$ nm; 柱温: 40°C; 进样量: 10 μL。

印度药典: 依利特 BDS C18 (4.6 mm×250 mm, 5 μm); 流动相: 0.1% 磷酸水溶液; 流速: 0.5 mL/min; 检测波长: 210 nm; 柱温: 25°C; 进样量: 20 μL。

自建方法: 岛津 GIST AQ- C18 (4.6 mm×250 mm, 3 μm); 流动相: 0.06% 三氟乙酸水溶液; 流速: 0.5 mL/min; 检测波长: 214 nm; 柱温: 25°C; 进样量: 10 μL。

(3) 试剂配制

蒜氨酸对照品溶液 取蒜氨酸对照品约 20 mg, 精密称定, 置 100 mL 量瓶中, 加水溶解并稀释至刻度, 摇匀, 精密量取 1 mL, 用水稀释至 10 mL, 摇匀。

羧甲基羟胺半盐酸盐溶液 取羧甲基羟胺半盐酸盐约 0.109 g, 精密称定, 置 100 mL 量瓶中, 加水溶解并稀释至刻度, 摇匀, 即得。

(4) 大蒜样品前处理考察

大蒜前处理考察

考察项目	考察因素	最佳条件
测定方法	美国药典、印度药典、自建方法	3种方法无差异,自建方法前处理较简便
灭酶时间	5、10、15 min	10 min

不同方法测定大蒜中蒜氨酸含量比较

参考美国药典、印度药典以及新疆胡蒜研究院建立方法分别测定大蒜中蒜氨酸的含量。

供试品溶液1(蒜氨酸—美国药典):取新鲜去皮大蒜10g,精密称定,置匀浆杯中,加入蒜酶抑制剂(羧甲基羟胺半盐酸盐溶液)70mL,高速匀浆30s,将溶液转移至100mL量瓶中,用20mL蒜酶抑制剂分次冲洗匀浆杯,并合并洗液,用蒜酶抑制剂(羧甲基羟胺半盐酸盐溶液)定容至刻度。精密量取1mL置10mL量瓶中,用甲醇-水(1:1)稀释至刻度,摇匀即得。

供试品溶液2(蒜氨酸—印度药典):精密称取去皮鲜蒜2g,置研钵中加15mL热水,研碎,过滤,残渣用15mL热水萃取并过滤,合并滤液至50mL量瓶中,用蒸馏水稀释至刻度,即得。

供试品溶液3(蒜氨酸—自建方法):精密称取去皮大蒜样品50g,置于500mL烧杯中,加水200mL,水煮灭酶10min,室温冷却,匀浆1min(20000r/min),浆液定量转移置500mL容量瓶中,加水稀释至刻度,摇匀,离心(8000r/min)15min,精密移取上清液1mL,置50mL量瓶中,加水稀释至刻度,摇匀。

不同方法测定大蒜中蒜氨酸含量比较

测定方法	蒜氨酸含量(%)		
	美国药典	印度药典	自建方法
大蒜			

阿合奇大蒜	1.29	1.26	1.34
木垒大蒜	1.20	1.13	1.22
河南大蒜	0.71	0.72	0.73
山东大蒜	0.52	0.49	0.54

自建方法与美国药典、印度药典测得的蒜氨酸含量没有显著性差异，但前处理更为简便，故选择自建方法的色谱条件及前处理方法。

大蒜中蒜氨酸含测-灭酶时间考察。

由于灭酶需要一定的反应时间，灭酶时间短，灭酶不完全，蒜氨酸会有损失，所以需要考察最佳的灭酶时间，故需考察大蒜水煮灭酶时间。分别将灭酶时间设定为 5、10、15 min，每个灭酶时间条件下平行制备三个供试品，进行测定。

不同灭酶时间对蒜氨酸含量测定的影响 (n=3)

灭酶时间 (min)	样品编号	称样量(g)	蒜氨酸(%)	平均含量(%)	RSD(%)
5	1	51.0961	0.738	0.736	0.77
	2	50.2040	0.740		
	3	50.4098	0.729		
10	1	50.2795	0.778	0.769	1.5
	2	50.7430	0.756		
	3	50.5312	0.774		
15	1	50.7391	0.692	0.689	0.57
	2	50.2442	0.691		
	3	51.7190	0.684		

由表可知，大蒜中蒜氨酸的含量随着灭酶时间的不同有着先增后降的趋势，在 10 min 时蒜氨酸的含量最高，故灭酶时间选择 10 min，蒜氨酸提取率最高。

大蒜样品蒜氨酸含量测定方法

取有代表性的大蒜样品，称取试样 50 g（精确至 0.0001 g），置于 500 mL 烧杯中，加水 200 mL，水煮灭酶 10 min，室温冷却，匀浆 1 min（20000 r/min），浆液定量转移置 500 mL 容量瓶中，加水稀释至刻度，摇匀，离心（8000 r/min）15 min，精密移取上清液 1 mL，置 50 mL 量瓶中，加水稀释至刻度，摇匀。

(5) 大蒜粉(片)、大蒜片剂前处理考察

大蒜粉(片)、大蒜片剂前处理考察

考察项目	考察因素	最佳条件
灭酶试剂	甲醇、乙醇、羧甲基羟胺半盐酸盐溶液	甲醇
灭酶用量	15、20、25 mL	20 mL
灭酶时间	5、10、15 min	10 min

灭酶试剂的筛选

为科学地反映大蒜粉(片)、大蒜片剂的质量,需采用灭酶测定法,在抑制或杀灭蒜氨酸酶并保证蒜氨酸稳定的基础上,建立测定方法。目前报道灭酶的常规方式包括酶抑制剂(羧甲基羟胺半盐酸盐溶液)灭酶、微波杀酶、有机溶剂灭酶等,针对蒜氨酸酶的灭酶试剂开展研究,选取羧甲基羟胺半盐酸盐溶液、甲醇、乙醇作为灭酶试剂,考察其对大蒜粉(片)、大蒜片剂样品的灭酶效果。

不同灭酶时间对蒜氨酸含量测定的影响 (n=3)

灭酶试剂	样品编号	称样量(g)	蒜氨酸(%)	平均含量(%)	RSD(%)
羧甲基羟胺半盐酸盐溶液	1	0.3084	3.41	3.43	0.89
	2	0.3041	3.42		
	3	0.3043	3.46		
甲醇	1	0.3072	3.88	3.86	0.90
	2	0.3077	3.82		
	3	0.3019	3.89		
乙醇	1	0.3053	3.86	3.84	1.3
	2	0.3072	3.87		
	3	0.3034	3.78		

通过 HPLC 法测定不同灭酶试剂处理后样品溶液中的蒜氨酸含量。结果表明,采用甲醇处理后蒜粉中蒜氨酸的含量最高,因此最终确定灭酶试剂为甲醇,而且安全、易得、价格便宜。

灭酶试剂甲醇的用量的筛选

蒜氨酸酶灭酶完全需要一定量灭酶溶剂,为避免溶剂用量过少带来的灭酶不完全,以及过多带来的浪费,故需考察使提取率最高的最优灭酶溶剂用量。分别将灭酶溶剂用量设定在 15、20、25 mL,进行测定。

灭酶试剂的用量对蒜氨酸含量测定的影响 (n=3)

灭酶用量 (mL)	样品编号	称样量(g)	蒜氨酸(%)	平均含量(%)	RSD(%)
15	1	0.3042	3.74	3.76	1.1
	2	0.3060	3.81		
	3	0.3020	3.73		
20	1	0.3084	3.94	3.88	1.5
	2	0.3091	3.87		
	3	0.3075	3.82		
25	1	0.3084	3.87	3.88	1.8
	2	0.3077	3.95		
	3	0.3090	3.82		

由表可知，大蒜粉中蒜氨酸的含量随着灭酶试剂的用量不同有不同，灭酶试剂的用量为 20、25 mL 时，蒜氨酸含量一致，故选择甲醇用量为 20 mL。

灭酶时间的筛选

由于灭酶需要一定的反应时间，灭酶时间短，灭酶不完全，蒜氨酸会有损失，所以需要考察最佳的灭酶时间，故需考察 5、10、15 min。分别将灭酶时间设定为 5、10、15 min，进行测定。

不同灭酶时间对蒜氨酸含量测定的影响 (n=3)

灭酶时间 (min)	样品编号	称样量(g)	蒜氨酸(%)	平均含量(%)	RSD(%)
5	1	0.3054	3.86	3.87	0.42
	2	0.3060	3.89		
	3	0.3041	3.87		
10	1	0.3084	3.93	3.93	0.79
	2	0.3091	3.96		
	3	0.3075	3.90		
15	1	0.3011	3.94	3.93	0.19
	2	0.3064	3.93		
	3	0.3057	3.93		

由表可知，大蒜粉中蒜氨酸的含量随着灭酶时间的不同略有不同，灭酶时间为 10、15 min 时，蒜氨酸含量一致，故选择灭酶时间为 10 min。

大蒜粉（片）、大蒜片剂蒜氨酸含量测定方法

称取蒜粉（片）、大蒜片剂 0.3 g（精确至 0.0001 g）置于 50 mL 容量瓶中，加无水甲醇 20 mL，超声 10 min，加水 20 mL，超声 10 min，

室温冷却，用水稀释定容至刻度，混匀，离心（8000 r/min）10 min，吸取上清液 1 mL，置于 10 mL 容量瓶中，用水定容至刻度，摇匀。

（6）大蒜软膏剂前处理考察

大蒜软膏剂前处理考察

考察项目	考察因素	最佳条件
提取温度	45、55、55、60℃	55℃
提取方式	磁力搅拌、超声加热、水浴搅拌	磁力搅拌
灭酶试剂	甲醇、乙醇、羧甲基羟胺半盐酸盐溶液	甲醇
灭酶时间	5、10、15、20 min	15 min
灭酶用量	15、20、25 mL	15 mL
提取时间	3、5、10 min	5 min

提取温度考察

软膏在室温下呈半固态，凡士林的熔点在 45-60℃，而蒜氨酸对热不稳定，因此考察 45℃、50℃、55℃、60℃ 条件下蒜氨酸提取率，筛选出最佳提取温度。分别将温度设定在 45℃、50℃、55℃、60℃，进行测定。

灭酶温度对蒜氨酸提取率测定的影响（n=3）

样品名称	样品编号	称样量 (g)	峰面积	蒜氨酸 (%)	平均含量 (%)	RSD (%)	提取率 (%)
大蒜粉	1	0.2983	384902	4.02	4.00	0.60	/
	2	0.2984	381871	3.99			
	3	0.2997	382182	3.98			
大蒜软膏剂 45℃	1	1.0700	280414	0.409	0.406	1.0	101.6
	2	1.0834	278854	0.401			
	3	1.0288	269719	0.409			
大蒜软膏剂 50℃	1	1.0753	265239	0.385	0.392	1.6	98.0
	2	1.0547	268328	0.397			
	3	1.0419	263453	0.394			
大蒜软膏剂 55℃	1	1.0417	277323	0.415	0.416	0.71	104.0
	2	1.0503	282373	0.419			
	3	1.0813	286744	0.413			
大蒜软膏剂 60℃	1	1.0026	260934	0.406	0.400	3.5	100.0
	2	1.0112	249149	0.384			
	3	1.0838	285214	0.410			

由表可知，不同提取温度对大蒜软膏剂中蒜氨酸提取率有影响，在 45℃、50℃、55℃、60℃ 温度条件下，蒜氨酸提取率分别为 101.6%、98.0%、

100.0%、104.0%。提取温度在 55℃时蒜氨酸的提取率最佳。

提取方式的考察

由于提取方式不同，提取效果不同，故采用三种提取方法对软膏中蒜氨酸提取效果进行考察。分别将提取方式设定为磁力搅拌，超声加热，水浴搅拌，进行测定。

提取方法对蒜氨酸提取率的影响 (n=3)

样品名称	样品编号	称样量 (g)	峰面积	蒜氨酸 (%)	平均含量 (%)	RSD (%)	提取率 (%)
磁力搅拌	1	1.0417	277323	0.415	0.416	0.71	104.0
	2	1.0503	282373	0.419			
	3	1.0813	286744	0.413			
超声加热	1	1.0850	267957	0.392	0.392	0.76	98.1
	2	1.0796	268519	0.395			
	3	1.0490	256986	0.389			
水浴搅拌	1	1.0906	280741	0.409	0.410	1.50	102.5
	2	1.0647	270828	0.404			
	3	1.0250	268614	0.416			

由表可知，不同的提取方式对大蒜软膏剂中蒜氨酸的提取率有影响，蒜氨酸在磁力搅拌提取的方式下提取率为 104.0%。水浴加热提取与磁力搅拌相比提取率有所降低，蒜氨酸的提取率为 102.5%。超声加热提取的提取率最低为 98.1%。此外，超声加热提取不易控制温度。采用磁力搅拌方式提取蒜氨酸含量效果最佳。

灭酶试剂的考察

蒜氨酸在水的介质中会与蒜氨酸酶反应生成大蒜辣素，故需先进行灭酶处理，甲醇、乙醇和羧甲基羟胺半盐酸盐溶液均有灭酶作用，故选用这三种灭酶溶剂进行考察。分别将灭酶溶剂设定为甲醇、乙醇和羧甲基羟胺半盐酸盐，进行测定。

不同灭酶溶剂对蒜氨酸提取率的影响 (n=3)

灭酶剂名称	样品编号	称样量 (g)	峰面积	蒜氨酸 (%)	平均含量 (%)	RSD (%)	提取率 (%)
甲醇	1	1.0417	277323	0.415	0.416	0.71	104.0
	2	1.0503	282373	0.419			
	3	1.0813	286744	0.413			

	1	1.0439	282785	0.422			
乙醇	2	1.0828	285464	0.411	0.414	1.8	103.5
	3	1.0254	268577	0.408			
羧甲基羟胺	1	1.0785	281373	0.407			
半盐酸盐溶	2	1.0893	282374	0.404	0.406	0.32	101.4
液	3	1.0770	280218	0.406			

由表可知，不同的灭酶溶剂对大蒜软膏剂中蒜氨酸的提取率有影响，但无明显差异，蒜氨酸在甲醇、乙醇和羧甲基羟胺半盐酸盐的灭酶溶剂下提取率分别为 104.0%、103.5%、101.4%。选甲醇灭酶时，不仅灭酶效果最好，蒜氨酸的提取效果最好，而且安全、易得、价格便宜。

灭酶时间的考察

由于灭酶需要一定的反应时间，灭酶时间短，灭酶不完全，蒜氨酸会有损失，所以需要考察最佳的灭酶时间，故需考察 5、10、15、20 min。分别将灭酶时间设定为 5、10、15、20 min，进行测定。

不同灭酶时间对蒜氨酸提取率影响 (n=3)

灭酶时间 (min)	样品编 号	称样量 (g)	峰面积	蒜氨酸 (%)	平均含量 (%)	RSD (%)	提取率 (%)
	1	1.0693	279389	0.407			
5	2	1.0439	271971	0.406	0.407	0.21	101.8
	3	1.0571	276571	0.408			
	1	1.0715	267200	0.389			
10	2	1.0774	287504	0.416	0.407	3.9	101.8
	3	1.0186	271980	0.416			
	1	1.0417	277323	0.415			
15	2	1.0503	282373	0.419	0.416	0.71	104.0
	3	1.0813	286744	0.413			
	1	1.0701	281248	0.410			
20	2	1.0625	279044	0.409	0.408	0.89	101.9
	3	1.0887	281630	0.403			

由表可知，大蒜软膏剂中蒜氨酸的提取率随着灭酶时间的不同有着先增后降的趋势，在 15 min 时蒜氨酸的提取率最高，为 104.0%。在 5 min、10 min、20 min 时皆小于 15 min 时的提取率。结果：灭酶时间选择 15 min，蒜氨酸提取率最高。

灭酶溶剂用量的考察

蒜氨酸酶灭酶完全需要一定量灭酶溶剂，为避免溶剂用量过少带来的

灭酶不完全,以及过多带来的浪费,故需考察使提取率最高的最优灭酶溶剂用量。分别将灭酶溶剂用量设定在 15、20、25 mL,进行测定。

灭酶溶剂用量对蒜氨酸提取率的影响 (n=3)

灭酶溶剂 (mL)	样品 编号	称样量 (g)	峰面积	蒜氨酸 (%)	平均含量 (%)	RSD (%)	提取率 (%)
15	1	1.0417	277323	0.415	0.416	0.71	104.0
	2	1.0503	282373	0.419			
	3	1.0813	286744	0.413			
20	1	1.0797	288129	0.420	0.413	1.7	103.2
	2	1.0445	272354	0.411			
	3	1.0498	271282	0.407			
25	1	1.0615	273455	0.406	0.412	1.4	103.0
	2	1.0471	274637	0.413			
	3	1.0656	282254	0.417			

由表可知,大蒜软膏剂中蒜氨酸的提取率随着灭酶试剂的用量不同有不同的提取效果,蒜氨酸在 15 mL 时有最大的提取率,为 104.0%。在 20 mL、25 mL 时皆小于 15 mL 时的提取率。灭酶试剂的用量选择 15 mL。

提取时间的考察

蒜氨酸提取完全需要一定时间,故考察使提取率最高的最优提取时间。分别将提取时间设定在 3、5、10 min,进行测定。

不同提取时间对蒜氨酸提取率影响 (n=3)

提取时间 (min)	样品 编号	称样量 (g)	峰面积	蒜氨酸 (%)	平均含量 (%)	RSD (%)	提取率 (%)
3	1	1.0218	269576	0.413	0.411	0.52	102.7
	2	1.0276	268282	0.408			
	3	1.0148	266518	0.411			
5	1	1.0417	277323	0.415	0.416	0.71	104.0
	2	1.0503	282373	0.419			
	3	1.0813	286744	0.413			
10	1	1.0314	268513	0.407	0.410	0.74	102.6
	2	1.0480	275060	0.411			
	3	1.0243	270624	0.413			

由表可知,大蒜软膏剂中蒜氨酸的提取率随着提取时间的不同有着先增后降的趋势,蒜氨酸在提取时间为 5 min 时有最大的提取率,为 104.0%。在 3、10 min 时提取率分别为 102.7%、102.6%皆小于 5 min 时的提取率。

提取时间选择 5 min。

大蒜软膏剂中蒜氨酸含量测定方法

称大蒜软膏剂 1.0 g (精确至 0.1 mg) 置于 50 mL 干燥的烧杯中, 加预热的甲醇 15 mL, 置磁力搅拌水浴锅 (55°C) 灭酶 15 min, 加预热水 20 mL, 提取 5 min, 置 50 mL 容量瓶中, 加预热水淋洗容器, 洗液合并置容量瓶中, 室温冷却, 加水稀释至刻度, 摇匀, 滤纸过滤。取续滤液 2.0 mL 置 10 mL 量瓶中, 用水稀释至刻度, 摇匀。

2. 大蒜及其制品方法学考察

(1) 专属性

分别取对照品溶液、供试品溶液和阴性对照溶液, 进行测定。在本实验的色谱条件下, 阴性对照溶液对蒜氨酸峰无影响, 供试品的色谱峰分离情况较好。采用二极管阵列检测器测定, 提取蒜氨酸峰纯度, 结果峰前、峰尖、峰尾光谱图一致, 该色谱峰为单一峰, 表明该方法专属性良好。

(2) 检测限与定量限

配制系列浓度的对照品溶液, 测定蒜氨酸的检测限和定量限。

检测限与定量限的检测结果

蒜氨酸 $\mu\text{g/mL}$	A	S/N	
22.73	362707	34.74	
11.365	179230	18.82	
9.092	146610	15.66	
6.364	100958	10.36	定量限
4.546	72883	7.31	
2.273	35798	3.66	
1.137	17560	1.94	
1.818	28739	3.07	检测限
6.137	98035	10.99	
6.819	108925	11.18	
2.046	32325	3.26	
1.591	24752	2.65	

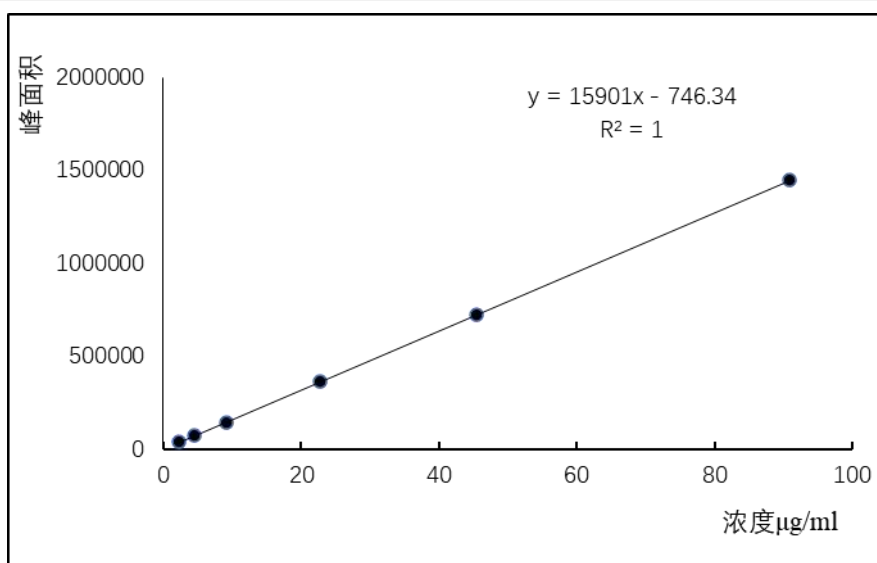
根据表可知，检测限为 1.818 $\mu\text{g/mL}$ ，定量限为 6.364 $\mu\text{g/mL}$ 。

(3) 线性与范围

配制系列蒜氨酸标准溶液的浓度为 2.273、4.546、9.092、22.73、45.46、90.92 $\mu\text{g/mL}$ ，滤过，进行测定，记录峰面积 A。

蒜氨酸标准曲线测定结果 (n=3)

蒜氨酸浓度 $\mu\text{g/mL}$	峰面积 A			
	A1	A2	A3	A
2.273	35284	35083	34927	35098
4.546	71642	71680	71837	71720
9.092	144236	144413	144467	144372
22.73	359537	360002	359909	359816
45.46	722327	722658	722938	722641
90.92	1445423	1444238	1444851	1444837



蒜氨酸标准曲线

由图可知，得回归方程 $A=15901C-746.34$ ， $r=1$ ，结果表明，蒜氨酸在 2.273–90.92 $\mu\text{g/mL}$ 浓度范围内线性关系良好。

(4) 精密度

重复性

大蒜样品重复性测定 精密称取大蒜供试品 6 份，按照色谱条件进行测定。以蒜氨酸百分含量为指标计算 RSD，考察方法的重复性。

大蒜样品重复性考察结果 (n=6)

编号	取样量 (g)	A(蒜氨酸)	含量 (%)	含量 (%)	RSD (%)
1	50.2096	486876	1.52		
2	50.2990	481724	1.50		
3	50.3109	499282	1.56		
4	50.0997	482627	1.51	1.56	4.3
5	50.2780	538927	1.68		
6	50.1038	507175	1.59		

结果显示, 6 份供试品溶液中蒜氨酸含量的测定结果基本一致, 蒜氨酸百分含量的 RSD 为 4.3%, 由于鲜蒜样品个体差异性较大, 可视该方法重复性良好。

大蒜粉样品重复性测定 精密称取大蒜粉供试品 6 份, 按照色谱条件进行测定。以蒜氨酸百分含量为指标计算 RSD, 考察方法的重复性。

大蒜粉样品重复性考察结果 (n=6)

编号	取样量 (g)	Aalliin	含量 (%)	平均含量 (%)	RSD (%)
1	0.3023	398587	4.14		
2	0.3028	402132	4.17		
3	0.3060	404376	4.15		
4	0.3046	400612	4.13	4.15	0.75
5	0.3039	397653	4.11		
6	0.3034	405535	4.20		

结果显示, 6 份供试品溶液中蒜氨酸含量的测定结果基本一致, 蒜氨酸百分含量的 RSD 为 0.75%, 表明该方法重复性良好。

大蒜软膏剂样品重复性测定 精密称取大蒜软膏供试品 6 份, 按照色谱条件进行测定。以蒜氨酸百分含量为指标计算 RSD, 考察方法的重复性。

重复性考察结果 (n=6)

编号	称样量 (g)	A(蒜氨酸)	含量 (%)	平均含量 (%)	RSD (%)
1	1.0144	266824	0.413		
2	1.0343	267808	0.407	0.409	1.2
3	1.0163	266080	0.411		

4	1.0176	260504	0.402
5	1.0191	269876	0.416
6	1.0381	269566	0.408

结果显示，蒜氨酸百分含量的 RSD 为 1.2%，表明该方法重复性良好。

中间精密度

大蒜样品中间精密度测定

由不同分析人员，采用不同仪器，测定同一供试品。分别精密称取同一大蒜供试品 6 份，按照色谱条件测定，考察方法的中间精密度。

A 人员，使用仪器型号：高效液相色谱仪（岛津，LC-2030C）

B 人员，使用仪器型号：高效液相色谱仪（岛津，LC-20AB）

中间精密度考察结果 (n=6)

人员	编号	取样量(g)	A(蒜氨酸)	含量(%)	含量(%)	RSD(%)	含量(%)	RSD%
A 人员	1	50.2096	486876	1.52	1.56	4.3	1.56	4.3
	2	50.2990	481724	1.50				
	3	50.3109	499282	1.56				
	4	50.0997	482627	1.51				
	5	50.2780	538927	1.68				
	6	50.1038	507175	1.59				
B 人员	1	50.8580	518820	1.54	1.55	4.7	1.55	4.7
	2	50.3114	504251	1.51				
	3	50.7350	518686	1.54				
	4	50.8580	501287	1.48				
	5	50.3114	565055	1.69				
	6	50.7350	526570	1.56				

A 人员 6 份供试品溶液测得的蒜氨酸百分含量为 1.56%，RSD 为 4.3%，B 人员 6 份供试品溶液测得的蒜氨酸百分含量为 1.55%，RSD 为 4.7%，表明该方法的中间精密度良好。

大蒜粉样品重复性测定

由不同分析人员，采用不同仪器，测定同一供试品。分别精密称取同一大蒜粉供试品 6 份，按照色谱条件测定，考察方法的中间精密度。

A 人员, 使用仪器型号: 高效液相色谱仪 (岛津, LC-2030C)

B 人员, 使用仪器型号: 高效液相色谱仪 (岛津, LC-20AB)

中间精密度考察结果 (n=6)

人员	编号	取样量(g)	A(蒜氨酸)	含量(%)	含量(%)	RSD(%)	含量(%)	RSD%
A 人员	1	0.3023	398587	4.14	4.15	0.75	4.11	1.3
	2	0.3028	402132	4.17				
	3	0.3060	404376	4.15				
	4	0.3046	400612	4.13				
	5	0.3039	397653	4.11				
	6	0.3034	405535	4.20				
B 人员	1	0.3064	412777	4.06	4.08	1.1	4.11	1.3
	2	0.3049	405153	4.00				
	3	0.3059	413739	4.07				
	4	0.3046	416370	4.12				
	5	0.3020	411048	4.10				
	6	0.3065	418958	4.12				

两名分析人员, 采用两台不同型号的高效液相色谱仪, 对同一批大蒜粉进行测定, 中间精密度 RSD 为 1.1%, 符合药典规定, 表明该方法的中间精密度良好。

大蒜软膏剂样品重复性测定

由不同分析人员, 采用不同仪器, 测定同一供试品。分别精密称取同一大蒜软膏剂供试品 6 份, 按照色谱条件测定, 考察方法的中间精密度。

A 人员, 使用仪器型号: 高效液相色谱仪 (岛津, LC-2030C)

B 人员, 使用仪器型号: 高效液相色谱仪 (岛津, LC-20AB)

中间精密度考察结果 (n=6)

人员	编号	取样量(g)	A(蒜氨酸)	含量(%)	含量(%)	RSD(%)	含量(%)	RSD%
A 人员	1	1.0144	266824	0.413	0.409	1.2	0.411	1.0
	2	1.0343	267808	0.407				

	3	1.0163	266080	0.411		
	4	1.0176	260504	0.402		
	5	1.0191	269876	0.416		
	6	1.0381	269566	0.408		
	1	1.0237	278484	0.410		
	2	1.0202	282389	0.417		
B 人员	3	1.0241	279499	0.411	0.412	0.91
	4	1.0293	278472	0.408		
	5	1.0144	275335	0.409		
	6	1.0120	279010	0.415		

两名分析人员，采用两台不同型号的高效液相色谱仪，对同一批大蒜软膏样品进行测定，中间精密度 RSD 为 1.0%，符合药典规定，表明该方法的中间精密度良好。

(5) 准确度

大蒜样品准确度测定

取本品约 50 g，精密称定，12 份，置 500 mL 烧杯中，加水 200 mL，水煮灭酶 10 min，匀浆 1 min，浆液定量转移至 500mL 量瓶中，加水稀释至刻度，摇匀，离心（8000 转/min）15 min，取上清液 1 mL，置于 50 mL 量瓶中，分别加入蒜氨酸对照品溶液（0.958 mg/mL）0 mL、0.8 mL、1.0 mL、1.2 mL，加水稀释至刻度，摇匀，即得。按外标法以峰面积计数。以蒜氨酸百分含量为指标，计算 RSD%。

大蒜回收率测定结果（n=3）

编号	取样量 (g)	本底值 (mg)	加入量 (mg)	实测值 (mg)	回收率 (%)	平均回 收率 (%)	RSD (%)
	50.9891	/	/	469.61	/		
本底	50.9093	/	/	464.59	/	/	/
	50.7793	/	/	443.92	/		
	50.7257	458.05		824.39	98.0		
本底+低	50.9270	459.87	383.2	846.23	100.4	100.0	1.8
	50.9787	460.34		856.32	101.5		
本底+中	50.7632	458.39		916.40	97.8	100.1	3.3

	50.9788	460.34	479.0	975.19	103.8		
	50.7180	457.98		924.84	98.7		
	50.9425	460.01		1074.5	103.8		
本底+高	50.8730	459.38	574.8	1071.6	103.6	103.7	0.13
	50.6225	457.12		1068.9	103.6		

大蒜中蒜氨酸含量为 0.903%，回收率限度为 92%-105%。该方法测得低、中、高浓度蒜氨酸回收率分别为 100.0%、100.1%、103.7%，回收率的 RSD 值分别为 1.8%、3.3%、0.13%，符合规定。

大蒜粉样品准确度测定

取本品 12 份，每份约 0.3 g，精密称定，分别置 50 mL 干燥量瓶中，加无水甲醇 20 mL，混匀，分别加入浓度为 4.28 mg/mL 的蒜氨酸对照品溶液 0、2.0、2.4、2.8 mL，制备成 4 种不同浓度，每种浓度制备 3 份，超声处理（功率 200 W，频率 40 kHz）10 min，放冷，加水稀释至刻度，摇匀，滤过，取续滤液 1.0 mL 置 10 mL 量瓶中，用水稀释至刻度，摇匀，滤膜滤过，按外标法以峰面积计数。以蒜氨酸百分含量为指标，计算 RSD%。

大蒜粉回收率测定结果 (n=3)

编号	取样量 (g)	本底值 (mg)	加入量 (mg)	实测值 (mg)	回收率 (%)	平均回收率 (%)	RSD (%)
本底	0.3062	/	/	12.60	/		
	0.3068	/	/	12.87	/	/	/
	0.3019	/	/	12.79	/		
本底+低	0.3011	12.59		22.36	100.1		
	0.3023	12.64	9.74	22.44	100.3	100.1	0.29
	0.3053	12.76		22.44	99.7		
本底+中	0.3063	12.80		24.38	99.6		
	0.3058	12.78	11.69	24.05	98.3	99.1	0.77
	0.3065	12.81		24.41	99.6		
本底+高	0.3071	12.84		26.50	100.1		
	0.3055	12.77	13.64	26.45	100.2	100.0	0.18
	0.3062	12.80		26.39	99.8		

大蒜粉中蒜氨酸含量为 4.18%，回收率限度为 92%–105%。该方法测得低、中、高浓度蒜氨酸回收率分别为 100.1%、99.1%、100.0%，回收率的 RSD 值分别为 0.29%、0.77%、0.18%符合中国药典规定。

大蒜软膏剂样品准确度测定

取本品 12 份，每份约 1.0 g，精密称定，分别置干燥的烧杯中，各加 55℃的甲醇 20 mL，分别加入浓度为 4.28 mg/mL 的蒜氨酸对照品溶液 0、0.8、1.0、1.2 mL，制备成 4 种不同浓度，每种浓度制备 3 份，置 55℃磁力搅拌水浴锅，灭酶 10 min，加 55℃的水 20 mL，搅拌 5 min，置 50 mL 量瓶中，用 55℃的水淋洗容器，洗液合并置量瓶中，放冷，加水稀释至刻度，摇匀，滤过，取续滤液 2.0 mL 置 10 mL 量瓶中，用水稀释至刻度，摇匀，滤膜滤过，按外标法以峰面积计数。以蒜氨酸百分含量为指标，计算 RSD%。

大蒜软膏剂回收率测定结果 (n=3)

编号	取样量 (g)	本底值 (mg)	加入量 (mg)	实测值 (mg)	回收率 (%)	平均回收率 (%)	RSD (%)
本底	1.0372	/	/	4.33	/		
	1.0303	/	/	4.26	/	/	/
	1.0880	/	/	4.53	/		
本底+低	1.0384	4.32		7.85	101.6		
	1.0369	4.31	3.42	8.09	104.8	103.4	1.6
	1.0568	4.40		8.10	103.9		
本底+中	1.0631	4.42		8.70	100.2		
	1.0823	4.50	4.28	8.81	100.5	100.3	0.19
	1.0539	4.38		8.66	100.3		
本底+高	1.0761	4.48		9.51	99.1		
	1.0602	4.41	5.14	9.66	101.4	99.9	1.3
	1.0408	4.33		9.36	99.1		

大蒜软膏剂中蒜氨酸含量为 0.414%，回收率限度为 90%–108%。该方法测得低、中、高浓度蒜氨酸回收率分别为 103.4%、100.3%、99.9%，回收率的 RSD 值分别为 1.6%、0.19%、1.3%，符合中国药典规定。

(6) 耐用性

考察在测定条件下试验参数发生细小改变时,检测不受影响的能力。主要考察流动相组成比例改变,检测波长改变、不同品牌色谱柱、柱温、流速改变对测定结果的影响,同时考察被测样品的稳定性,以满足系统适用性试验的要求,确保方法的可靠性。

大蒜样品耐用性测定

大蒜样品耐用性考察结果

改变条件	RT	含量 (%)	平均含量 (%)	RSD (%)
柱温 20°C	12.941	1.82		
柱温 25°C	12.555	1.81	1.82	0.55
柱温 30°C	12.158	1.83		
甲醇: 0.06%TFA (0:100)	12.555	1.81		
甲醇: 0.06%TF (2.5:97.5)	12.511	1.86	1.85	1.9
甲醇: 0.06%TFA (5:95)	9.309	1.88		
0.4mL/min	15.627	1.85		
0.5mL/min	12.555	1.81	1.84	1.3
0.6mL/min	10.467	1.85		
柱子型号: GIST	12.555	1.81		
柱子型号: 岛津 AQ-C18	13.145	1.83	1.82	0.64
柱子型号: 依利特 ODS-C18	9.908	1.81		

耐用性考察结果显示,柱温、流动相比例、色谱柱型号和流速对蒜氨酸测定结果无显著性影响,蒜氨酸理论塔板数均能达到 10000 以上,分离度均大于 1.5,表明该方法耐用性良好。

大蒜粉样品耐用性测定

大蒜粉样品耐用性考察结果

改变条件	RT	含量 (%)	平均含量 (%)	RSD (%)
柱温 20°C	12.920	3.75		
柱温 25°C	12.535	3.72	3.73	0.46

柱温 30°C	12.138	3.72		
甲醇: 0.06%TFA (0:100)	12.535	3.72		
甲醇: 0.06%TF (2.5:97.5)	12.522	3.84	3.64	6.9
甲醇: 0.06%TFA (5:95)	9.291	3.36		
0.4mL/min	15.602	3.79		
0.5mL/min	12.535	3.72	3.77	1.2
0.6mL/min	10.451	3.80		
柱子型号: GIST	12.535	3.72		
柱子型号: 岛津 AQ-C18	13.139	3.59	3.62	2.3
柱子型号: 依利特 ODS-C18	9.912	3.56		

柱温、流速改变对蒜氨酸测定结果无显著性影响, 蒜氨酸理论塔板数达到 10000 以上, 分离度均大于 1.5。而流动相比比例改变、不同品牌色谱柱对蒜氨酸测定影响均较大, 故规定流动相比比例为: 0.06%三氟乙酸溶液, 色谱柱型号为: Shim-pack GIST C18-AQ (4.6 mm×250 mm, 3 μm)。

大蒜软膏剂样品耐用性测定

大蒜软膏剂样品耐用性考察结果

改变条件	RT	含量 (%)	平均含量 (%)	RSD (%)
柱温 20°C	12.922	0.412		
柱温 25°C	12.536	0.408	0.411	0.64
柱温 30°C	12.139	0.413		
甲醇: 0.06%TFA (0:100)	12.536	0.408		
甲醇: 0.06%TF (2.5:97.5)	12.503	0.422	0.406	4.2
甲醇: 0.06%TFA (5:95)	9.295	0.388		
0.4mL/min	15.604	0.416		
0.5mL/min	12.536	0.408	0.414	1.4
0.6mL/min	10.450	0.419		
柱子型号: GIST	12.536	0.408		
柱子型号: 岛津 AQ-C18	13.140	0.403	0.403	1.1

柱温、流速、不同色谱柱改变对蒜氨酸测定结果无显著性影响，蒜氨酸理论塔板数达到 10000 以上，分离度均大于 1.5。而流动相比比例改变对蒜氨酸测定影响均较大，故规定流动相比比例为：0.06%三氟乙酸溶液。

(7) 样品溶液的稳定性

大蒜样品溶液的稳定性

取供试品溶液 1 份置室温下，分别在 0、2、4、6、8、12、24 h 测定，以蒜氨酸百分含量为指标计算 RSD，考察样品在室温下的稳定性。

大蒜样品稳定性考察结果 (n=7)

放置时间 (h)	峰面积	蒜氨酸含量%	降解率%	RSD (%)
0	526694	1.65	/	
2	524031	1.64	0.51	
4	523749	1.64	0.56	
8	522945	1.63	0.71	1.4
12	522238	1.63	0.85	
18	520939	1.63	1.09	
24	521886	1.63	0.91	

结果显示，不同时间点测得的样品中蒜氨酸降解率小于 2.0%，表明样品溶液在室温下 24 h 内稳定。

2.7.2 大蒜粉样品溶液的稳定性

取供试品溶液 1 份置室温下，分别在 0、2、4、6、8、12、24 h 测定，以蒜氨酸百分含量为指标计算 RSD%，考察样品在室温下的稳定性。

大蒜粉样品稳定性考察结果 (n=7)

放置时间 (h)	峰面积	蒜氨酸含量%	降解率%	RSD (%)
0	376885	3.89	/	
2	377110	3.90	-0.06	
4	376837	3.89	0.01	0.37
8	376356	3.89	0.14	

12	375539	3.88	0.36
18	374241	3.87	0.70
24	373664	3.86	0.85

结果显示，不同时间点测得的样品中蒜氨酸降解率小于 1.0%，表明样品溶液在室温下 24 h 内稳定。

大蒜软膏剂样品溶液的稳定性

取供试品溶液 1 份置室温下，分别在 0、2、4、6、8、12、24 h 测定，以蒜氨酸百分含量为指标计算 RSD%，考察样品在室温下的稳定性。

大蒜软膏剂样品稳定性考察结果 (n=7)

放置时间 (h)	峰面积	蒜氨酸含量%	降解率%	RSD (%)
0	279489	0.426	/	
2	270159	0.412	3.34	
4	270509	0.413	3.21	
8	268661	0.410	3.87	1.4
12	269969	0.412	3.41	
18	269457	0.411	3.59	
24	269790	0.412	3.47	

结果显示，不同时间点测得的样品中蒜氨酸降解率小于 2.0%，表明样品溶液在室温下 24 h 内稳定。

2.8 方法验证

2.8.1 大蒜样品方法验证

取供试品 11 批大蒜按蒜氨酸含量测定方法的色谱条件测定，计算供试品中蒜氨酸含量。

样品中蒜氨酸含量测定结果 (n=3)

编号	取样量 (g)	A	含量 (%)	平均含量 (%)	RSD (%)
	50.7634	423933	1.32		
1	50.2456	404570	1.27	1.30	1.8
	50.2590	414126	1.30		
2	50.0206	337165	1.06	1.01	4.5

	50.9636	317596	0.98		
	50.1346	313284	0.99		
	50.5289	682928	2.13		
3	50.9589	639116	1.98	2.03	4.5
	50.9930	637516	1.97		
	50.4586	405662	1.27		
4	50.4933	385301	1.21	1.22	3.7
	50.8462	380873	1.18		
	50.3698	340508	1.07		
5	50.4581	321509	1.01	1.02	4.3
	50.1732	312598	0.98		
	50.2697	428236	1.35		
6	50.2559	403638	1.27	1.31	3.0
	50.0206	417153	1.32		
	50.3636	299835	0.94		
7	50.1346	280650	0.88	0.914	3.1
	50.1789	291558	0.92		
	50.1589	385550	1.21		
8	50.3930	364846	1.14	1.17	3.1
	50.4556	372326	1.17		
	50.4333	257869	0.81		
9	50.5262	244964	0.77	0.786	2.7
	50.3692	250079	0.78		
	50.4281	431381	1.35		
10	50.1755	402060	1.27	1.31	3.3
	50.2647	416549	1.31		
	50.2549	511994	1.61		
11	50.2578	483840	1.52	1.57	2.9
	50.2679	504441	1.59		

11批大蒜样品测定结果准确度高，重复性好，蒜氨酸含量的RSD%均符合药典要求。

大蒜粉样品方法验证

取供试品 11 批大蒜粉按蒜氨酸含量测定方法的色谱条件测定，计算供试品中蒜氨酸含量。

样品中蒜氨酸含量测定结果 (n=3)

编号	取样量 (g)	A	含量 (%)	平均含量 (%)	RSD (%)
1	0.3073	381275	3.88	3.83	1.2
	0.3067	374328	3.82		
	0.3044	369209	3.79		
2	0.3074	378836	3.85	3.84	0.49
	0.3065	375674	3.83		
	0.3031	369933	3.82		
3	0.3090	375952	3.81	3.78	0.64
	0.3091	371570	3.76		
	0.3095	372901	3.77		
4	0.3079	332205	3.37	3.35	0.69
	0.3057	325713	3.33		
	0.3068	327369	3.34		
5	0.3014	270477	2.81	2.77	1.2
	0.3041	266343	2.74		
	0.3026	267150	2.76		
6	0.3034	282138	2.91	2.90	0.53
	0.3043	281943	2.90		
	0.3058	281412	2.88		
7	0.3062	403805	4.12	4.12	0.51
	0.3041	397746	4.09		
	0.3067	404923	4.13		
8	0.3080	237111	2.41	2.39	0.77
	0.3082	235042	2.39		
	0.3088	234148	2.37		
9	0.3023	270726	2.80	2.78	0.87
	0.3021	266035	2.75		
	0.3035	270660	2.79		
10	0.3065	288368	2.94	2.96	0.48
	0.3066	290578	2.96		

	0.3068	291242	2.97		
	0.3034	409363	4.22		
11	0.3051	420073	4.31	4.27	1.0
	0.3021	413504	4.28		

11 批大蒜粉样品测定结果准确度高，重复性好，蒜氨酸含量的 RSD% 均符合药典要求。

大蒜软膏剂样品方法验证

取供试品 11 批大蒜软膏剂按蒜氨酸含量测定方法的色谱条件测定，计算供试品中蒜氨酸含量。

样品中蒜氨酸含量测定结果 (n=3)

编号	取样量 (g)	A	含量 (%)	平均含量 (%)	RSD (%)
	1.0044	184248	0.289		
1	1.0126	184674	0.287	0.288	0.29
	1.0269	187809	0.288		
	1.0879	200476	0.290		
2	1.0685	197204	0.291	0.291	0.25
	1.0408	192742	0.292		
	1.0504	304356	0.456		
3	1.0436	304291	0.459	0.461	1.2
	1.0611	314409	0.467		
	1.0213	261816	0.404		
4	1.0003	248267	0.391	0.399	1.7
	1.0331	262757	0.401		
	1.0553	197222	0.294		
5	1.0560	194012	0.289	0.293	1.2
	1.0369	195135	0.296		
	1.0858	259867	0.377		
6	1.0823	262131	0.382	0.381	1.1
	1.0625	259714	0.385		
	1.0082	307424	0.480		
7	1.0366	312737	0.475	0.478	0.54

	1.0480	318480	0.479		
	1.0710	260544	0.383		
8	1.0017	249974	0.393	0.387	1.3
	1.0655	260744	0.386		
	1.0601	261677	0.389		
9	1.0324	264430	0.404	0.397	1.9
	1.0256	259983	0.399		
	1.0409	196219	0.297		
10	1.0403	198343	0.300	0.299	0.64
	1.0285	196025	0.300		
	1.0264	255892	0.393		
11	1.0394	263415	0.399	0.397	0.87
	1.0297	260146	0.398		

11批大蒜软膏剂样品测定结果准确度高，重复性好，蒜氨酸含量的RSD%均符合药典要求。

总结

(1) 大蒜中蒜氨酸含量测定方法学验证

大蒜中蒜氨酸含量测定方法学验证

项目	验证结果
专属性	空白试验 系统适用性试验
该色谱条件下阴性对照溶液对蒜氨酸峰无影响，供试品分离良好。以蒜氨酸峰计算理论塔板数为21750，蒜氨酸峰与相邻峰的分度为12.089，达到基线分离，符合相关规定。蒜氨酸峰的拖尾因子为1.110，符合相关规定。	
线性和范围	以蒜氨酸对照品浓度C为横坐标，峰面积A为纵坐标线性回归，得回归方程 $A=15901C-746.34$ ，相关系数 $r=1.000$ ，结果表明，蒜氨酸在2.27-90.92 $\mu\text{g/mL}$ 浓度范围内线性关系良好。
准确度	大蒜中蒜氨酸含量为0.903%，《中国药典》规定回收率限度为92%-105%。测定高中低3个浓度，回收率均在92.0-105.0%之间，平均回收率分别为101.3%，RSD(n=9)为0.07%。
精密度	重复精密度 中间精密度
测定6份供试品溶液中蒜氨酸含量的测定结果基本一致，蒜氨酸百分含量的RSD为4.3%，表明该方法重复性良好。	
由两名分析人员，分别测定同一份供试品，A人员RSD(n=6)为4.3%；B人员RSD(n=6)为4.7%。符合药典规定。	

溶液的稳定性	供试品溶液放置 0、2、4、6、8、12 和 24 h，进样主成分峰面积无明显变化，RSD (n=7) 为 1.4%，结果显示含量测定溶液至少在 24 h 内保持稳定。
耐用性	将色谱条件中的参数作适度变化后，如色谱条件中的流速、柱温参数作微小调整对测定结果基本不会产生显著性影响，但改变色谱柱的厂家及流动相的比例对蒜氨酸的测定结果有一定的影响，故需要特殊说明，并写入标准中。
方法验证	11 批大蒜样品测定结果准确度高，重复性好，蒜氨酸含量的 RSD% 均符合药典要求。

(2) 大蒜粉（片）、片剂中蒜氨酸含量测定方法学验证

大蒜粉蒜氨酸含量测定方法学验证总结

项目	验证结果
专属性	空白试验 系统适用性试验 该色谱条件下阴性对照溶液对蒜氨酸峰无影响，供试品分离良好。以蒜氨酸峰计算理论塔板数为 21750，蒜氨酸峰与相邻峰的分度为 12.089，达到基线分离，符合相关规定。蒜氨酸峰的拖尾因子为 1.110，符合相关规定。
线性和范围	以蒜氨酸对照品浓度 C 为横坐标，峰面积 A 为纵坐标线性回归，得回归方程 $A=15901C-746.34$ ，相关系数 $r=1.000$ ，结果表明，蒜氨酸在 2.27-90.92 $\mu\text{g/mL}$ 浓度范围内线性关系良好。
准确度	大蒜粉蒜氨酸含量为 4.0%，《中国药典》规定回收率限度为 92%-105%。测定高中低 3 个浓度，回收率均在 92.0-105.0% 之间，平均回收率分别为 99.7%，RSD (n=9) 为 1.1%。
精密度	重复精密度 中间精密度 测定 6 份供试品溶液中蒜氨酸含量的测定结果基本一致，蒜氨酸百分含量的 RSD 为 0.75%，表明该方法重复性良好。 由两名分析人员，分别测定同一份供试品，A 人员 RSD (n=6) 为 0.75%；B 人员 RSD (n=6) 为 1.1%。符合药典规定。
溶液的稳定性	供试品溶液放置 0、2、4、6、8、12 和 24 h，进样主成分峰面积无明显变化，RSD (n=7) 为 0.37%，结果显示含量测定溶液至少在 24 h 内保持稳定。
耐用性	柱温、流速改变对蒜氨酸测定结果无显著性影响，蒜氨酸理论塔板数达到 10000 以上，分离度均大于 1.5。而流动相比例改变、不同品牌色谱柱对蒜氨酸测定影响均较大，故规定流动相比例为：0.06% 三氟乙酸溶液，色谱柱型号为：Shim-pack GIST C18-AQ (4.6 mm×250 mm, 3 μm)。
方法验证	11 批大蒜粉（片）、片剂测定结果准确度高，重复性好，蒜氨酸含量的 RSD% 均符合药典要求。

(3) 大蒜软膏剂中蒜氨酸含量测定方法学验证

项 目		验证结果
专 属 性	空白试验	该色谱条件下阴性对照溶液对蒜氨酸峰无影响，供试品分离良好。
	系统适用性 试验	以蒜氨酸峰计算理论塔板数为 21750，蒜氨酸峰与相邻峰的分度度为 12.089，达到基线分离，符合相关规定。蒜氨酸峰的拖尾因子为 1.110，符合相关规定。
线性和范围		以蒜氨酸对照品浓度 C 为横坐标，峰面积 A 为纵坐标线性回归，得回归方程 $A=15901C-746.34$ ，相关系数 $r=1.000$ ，结果表明，蒜氨酸在 2.27-90.92 $\mu\text{g/mL}$ 浓度范围内线性关系良好。
准确度		大蒜软膏剂蒜氨酸含量为 0.414%，《中国药典》规定回收率限度为 90%-108%。测定高中低 3 个浓度，回收率均在 90%-108% 之间，平均回收率分别为 101.2%，RSD (n=9) 为 2.1%。
精 密 度	重复精密度	测定 6 份供试品溶液中蒜氨酸含量的测定结果基本一致，蒜氨酸百分含量的 RSD 为 1.2%，表明该方法重复性良好。
	中间精密度	由两名分析人员，分别测定同一份供试品，A 人员 RSD (n=6) 为 1.2%；B 人员 RSD (n=6) 为 0.91%。符合药典规定。
溶液的稳定性		供试品溶液放置 0、2、4、6、8、12 和 24 h，进样主成分峰面积无明显变化，RSD (n=7) 为 1.4%，结果显示含量测定溶液至少在 24 h 内保持稳定。
耐用性		柱温、流速、不同色谱柱改变对蒜氨酸测定结果无显著性影响，蒜氨酸理论塔板数达到 10000 以上，分离度均大于 1.5。而流动相比比例改变对蒜氨酸测定影响均较大，故规定流动相比比例为：0.06%三氟乙酸溶液。
方法验证		11 批大蒜软膏剂测定结果准确度高，重复性好，蒜氨酸含量的 RSD% 均符合药典要求。

本研究主要通过 HPLC 法建立大蒜及其制品中蒜氨酸的检测方法并进行方法学考察，为其鉴定和质量控制提供标准，该法检测到的蒜氨酸不仅能有较好的分离度，而且前处理简单，大大缩短了药品测定所需要的时间。

(二) 制定(修订)标准的原则和依据,与现行法律、法规、标准的关系

1. 标准编制遵循“先进性、实用性、统一性、规范性”的原则,符合国家现行法律法规及相关规定及要求,重点突出在样品的前处理方法、蒜氨酸含量测定条件的优化上,并注重标准的可操作性。

2. 制定标准 依据

编写格式依据 GB/T 1.1-2009《标准化工作导则 第1部分:标准化文件的结构和起草规则》的规定而制定。

根据我国现有标准体系引用相关要求,参考的安全要求。以下为参考和引用标准。

NY/T 2643 大蒜及制品中蒜素的测定 高效液相色谱法

NY/T 3871 大蒜中蒜氨酸的测定 高效液相色谱法

T/HAS 105 饲料原料 大蒜粉

DB 65/T 4511 高蒜氨酸含量大蒜质量评价规范

国家质量监督检验检疫总局令(2005)第75号 定量包装商品计量监督管理办法
国家质量监督检验检疫总局令(2005)第75号 定量包装商品计量监督管理办法。

3. 与现有相关标准的关系

本标准为首次制定,是在参考了《中国药典》一部大蒜、DB 65/T 4511-2022 高蒜氨酸含量大蒜质量评价规范、T/HAS 105-2020 饲料原料大蒜粉、《美国药典》、《英国/欧盟药典》和《印度药典》等标准的基础上结合实际状况制定的,因此与现行法律、法规及强制性标准无冲突。

四、重大意见分歧的处理依据和结果

暂无。

五、其他应予说明的事项

建议《大蒜及其制剂中蒜氨酸的测定 高效液相色谱法》作为推荐性标准发布实施。首先,随着生活水平的提高和食品工业的升级,功能性食品中的营养成分与功能活性物质越来越受到消费者的关注与重视,为大蒜

及其制剂按质论价提供依据，对有些企业为追求利润最大化，将低含量大蒜或其制品销售给消费者，损害消费者的利益，为杜绝该类情况，制定蒜氨酸的含量测定方法建立十分必要。

通过项目的实施，首先与国际检测的评价标准接轨，统一使用蒜氨酸为指标成分对大蒜及其制品进行质量控制，不仅可以为大蒜及其制品的“按质论价”提供依据，还可以保障市场的公平竞争和消费者的权益及人民的身体健康，同时，还推动现行大蒜相关标准与时俱进，与国际接轨，促进产业升级和技术创新，服务于大健康产业。

《大蒜及其制剂中蒜氨酸的测定 高效液相色谱法》

标准起草小组

2023年06月

ICS

CCS 点击此处添加 CCS 号

T/

团体标准

T/XXX XXXX—2023

大蒜及其制品中蒜氨酸的测定 高效液相 色谱法

Determination of Alliin in Garlic and its Products-High performance liquid
chromatography

(征求意见稿)

在提交反馈意见时，请将您知道的相关专利连同支持性文件一并附上。

XXXX - XX - XX 发布

XXXX - XX - XX 实施

新疆维吾尔自治区质量协会 发布

目 次

前言	II
1 范围	1
2 规范性引用文件	1
3 术语和定义	1
4 原理	1
5 试剂或材料	1
6 仪器设备	1
7 样品及试样前处理	2
8 测定方法	2
9 试验数据处理	3
10 精密度	3
11 蒜氨酸 HPLC 参考色谱图	3
附录 A（规范性） 大蒜及其制品中蒜氨酸的 HPLC 参考色谱图	4
参考文献	7

前 言

本文件按照GB/T 1.1—2020《标准化工作导则 第1部分：标准化文件的结构和起草规则》的规定起草。

请注意本文件的某些内容可能涉及专利。本文件的发布机构不承担识别专利的责任。

本文件由新疆胡蒜研究院（有限公司）提出。

本文件由新疆维吾尔自治区质量协会归口。

本文件起草单位：新疆胡蒜研究院（有限公司）、新疆医科大学、新疆大蒜药用研究重点实验室、新疆天然药物活性组分与释药技术重点实验室、新疆维吾尔自治区药物研究所、中国科学院新疆理化技术研究所、新疆维吾尔自治区药品检验研究院、新疆维吾尔自治区标准化研究院。

本文件主要起草人：史荣梅、刘睿婷、宋百灵、李新霞、马雪红、李兰兰、肖文浚、张春子、赵荣梅、胡小明、陈丽、郑瑞芳、刁娟娟、李莎莎、张露。

大蒜及其制品中蒜氨酸的测定 高效液相色谱法

1 范围

本文件规定了大蒜及其制品（大蒜粉、大蒜片、大蒜片剂、大蒜软膏剂）中活性成分蒜氨酸（S-烯丙基-L-半胱氨酸亚砜）含量的高效液相色谱测定方法。

本文件适用于大蒜及其制品（大蒜粉、大蒜片、大蒜片剂、大蒜软膏剂）中蒜氨酸的含量测定。

2 规范性引用文件

下列文件中的内容通过文中的规范性引用而构成本文件必不可少的条款。其中，注日期的引用文件，仅该日期对应的版本适用于本文件；不注日期的引用文件，其最新版本（包括所有的修改单）适用于本文件。

NY/T 2643 大蒜及制品中蒜素的测定 高效液相色谱法

NY/T 3871 大蒜中蒜氨酸的测定 高效液相色谱法

NY/T4351 大蒜及其制品中水溶性有机硫化合物的测定 液相色谱-串联质谱法

T/HAS 105 饲料原料 大蒜粉

DB 65/T 4511 高蒜氨酸含量大蒜质量评价规范

3 术语和定义

蒜氨酸 Alliin S-烯丙基-L-半胱氨酸亚砜(S-allyl-L-cysteine sulfoxide), 分子式为 $C_6H_{11}NO_3S$, CAS#: 556-27-4, 相对分子质量为177.22。

4 原理

大蒜及其制品中蒜氨酸在紫外光区214 nm波长处有最大吸收，经灭酶、水提取、液相色谱分离后，紫外检测器测定，外标法定量。

5 试剂或材料

5.1 试剂

5.1.1 甲醇(CH_3OH)：分析纯（用于样品前处理）、色谱纯（用于HPLC分析）。

5.1.2 三氟乙酸(CF_3COOH)：色谱纯。

5.2 溶液配制

三氟乙酸溶液（0.06%，体积分数）：准确吸取0.60 mL三氟乙酸（4.1.2）于预先加入一定量水的1000 mL容量瓶中，加水稀释至刻度，摇匀，经0.22 μm 滤膜过滤。

5.3 标准样品

蒜氨酸标准样品（Alliin, $C_6H_{11}NO_3S$, CAS: 556-27-4）：含量 $\geq 99.0\%$ 。

5.4 标准溶液配制

蒜氨酸标准储备液（200 mg/L）：称取蒜氨酸标准物质0.020 g（精确至0.00001 g）置于100 mL容量瓶中，用水溶解，稀释定容至刻度，摇匀，4℃保存，有效期1个月。

临用前，精密量取贮备液1 mL，置10 mL量瓶中，加水稀释至刻度，摇匀，色谱分析前用0.22 μm 微孔滤膜过滤。

6 仪器设备

6.1 高效液相色谱仪：配备紫外检测器。

6.2 分析天平：感量0.1 mg、0.01 mg。

- 6.3 匀浆仪。
- 6.4 高速粉碎机。
- 6.5 研钵。
- 6.6 超声波清洗仪。
- 6.7 离心机：转速 8000 r/min。
- 6.8 磁力搅拌恒温水浴锅：可控温控速。
- 6.9 实验室可调温电炉电子万用炉。
- 6.10 国家标准药检筛（150 μm）。

7 样品及试样前处理

7.1 大蒜

取有代表性的大蒜样品，平行做三份试验。称取试样50 g（精确至0.1 mg），置于500 mL烧杯中，加水200 mL，水煮灭酶10 min，室温冷却，匀浆1 min（20000 r/min），浆液定量转移置500 mL容量瓶中，加水稀释至刻度，摇匀，离心（8000 r/min）15 min，精密移取上清液1 mL，置50 mL容量瓶中，加水稀释至刻度，摇匀。色谱分析前用0.22 μm微孔滤膜过滤。

7.2 大蒜粉（片）

大蒜粉：通过150 μm试验筛，混匀。

大蒜片：用粉碎机粉碎，通过150 μm试验筛，混匀。

称取蒜粉（片）0.3 g（精确至0.1 mg）置于50 mL容量瓶中，加无水甲醇20 mL，超声10 min，加水20 mL，超声10 min，室温冷却，用水稀释定容至刻度，混匀，离心（8000 r/min）10 min，吸取上清液1 mL，置于10 mL容量瓶中，用水定容至刻度，摇匀。色谱分析前用0.22 μm微孔滤膜过滤。

7.3 大蒜片剂

大蒜片剂：取大蒜片剂20片，用研钵研磨成粉末，混匀。

称取大蒜片剂0.3 g（精确至0.1 mg）置于50 mL容量瓶中，加无水甲醇20 mL，超声10 min，加水20 mL，超声10 min，室温冷却，用水稀释定容至刻度，混匀，离心（8000 r/min）10 min，吸取上清液1 mL，置于10 mL容量瓶中，用水定容至刻度，摇匀。色谱分析前用0.22 μm微孔滤膜过滤。

7.4 大蒜软膏剂

称大蒜软膏剂1.0 g（精确至0.1 mg）置于50 mL干燥的烧杯中，加预热的甲醇15 mL，置磁力搅拌水浴锅（55℃）灭酶15 min，加预热的水（55℃）20 mL，提取5 min，置50 mL容量瓶中，加预热水淋洗容器，洗液合并置容量瓶中，室温冷却，加水稀释至刻度，摇匀，滤纸过滤。取续滤液2.0 mL置10 mL量瓶中，用水稀释至刻度，摇匀。色谱分析前用0.22 μm微孔滤膜过滤。

8 测定方法

8.1 色谱条件

耐水液相色谱柱：以十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂，粒径3 μm。

流动相：三氟乙酸溶液（4.2）。

流速：0.5 mL/min。

进样量：10 μL。

柱温：25℃。

检测波长：214 nm。

8.2 系统适用性试验

8.2.1 对分离度溶液进行色谱分析，蒜氨酸的分离度 $R \geq 1.5$ 。

8.2.2 对标准溶液进行色谱分析，重复进样次数至少6次，检测所得结果的相对标准偏差 $\leq 2.0\%$ 。

8.3 系标准曲线的制作

准确吸取一定量的蒜氨酸标准储备液（4.4），用水配制成浓度约为2.27 mg/L、4.54 mg/L、9.09 mg/L、22.73 mg/L、45.46 mg/L、90.92 mg/L的系列标准溶液，供高效液相色谱仪测定。

8.4 测定

取待测液（6.1-6.4）和相应浓度的标准溶液（7.3）按照7.1色谱参考条件测定，做单点校准或多点校准，以保留时间定性，以色谱峰面积外标法定量。待测液和标准工作溶液中蒜氨酸的响应值应在仪器检测的线性范围内。在上述色谱条件下，蒜氨酸标准溶液及空白溶液、待测液的色谱图见附录A。

9 试验数据处理

大蒜及其制品中蒜氨酸含量的质量分数 ω ，按公式（1）计算：

$$\omega = \frac{A_x \times C_s \times D}{A_s \times W \times 1000} \times 100 \quad (1)$$

式中： ω ——大蒜及其制品中蒜氨酸含量的质量分数的数值，单位为%；

D——试样的稀释倍数；

A_x ——试样溶液中蒜氨酸峰面积值；

C_s ——标准溶液的浓度，单位为毫克每毫升（mg/mL）；

A_s ——标准溶液中蒜氨酸峰面积值；

W——试样的取样量，单位为克（g）；

测定结果用平行测定的算数平均值表示，计算结果保留3位有效数字。

10 精密度

在重复性条件下获得的3次独立测定结果的相对标准偏差 $\leq 5.0\%$ 。

11 蒜氨酸 HPLC 参考色谱图

大蒜及其制品中蒜氨酸的HPLC参考色谱图见附录A。

附录 A
(规范性)
大蒜及其制品中蒜氨酸的 HPLC 参考色谱图

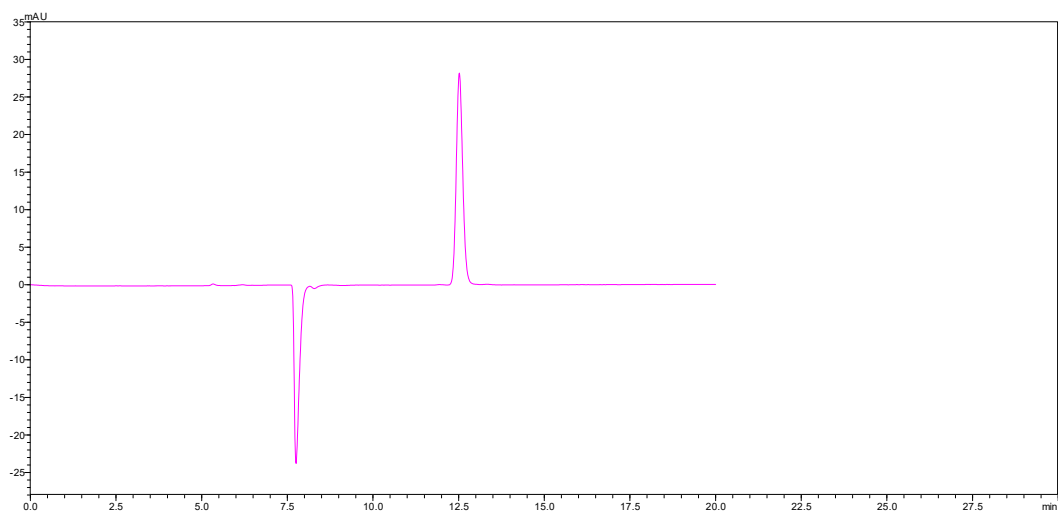


图 A.1 蒜氨酸标准物质 HPLC 色谱图

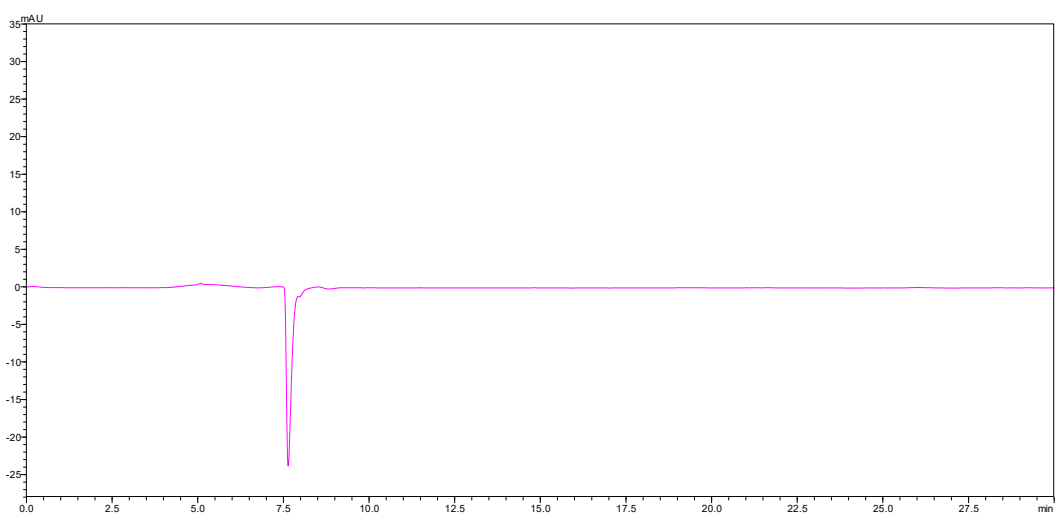


图 A.2 大蒜样品空白溶剂 HPLC 色谱图

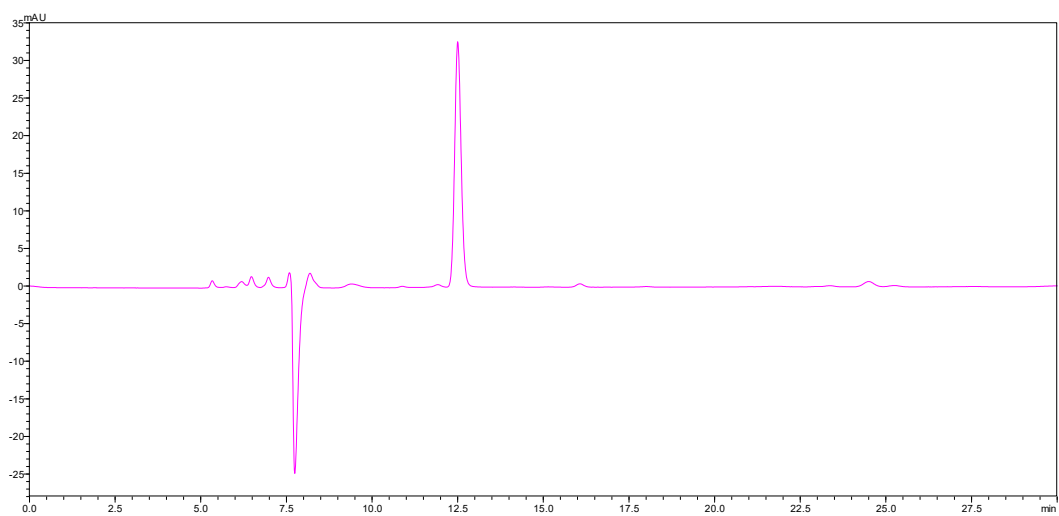


图 A.3 大蒜中蒜氨酸 HPLC 色谱图

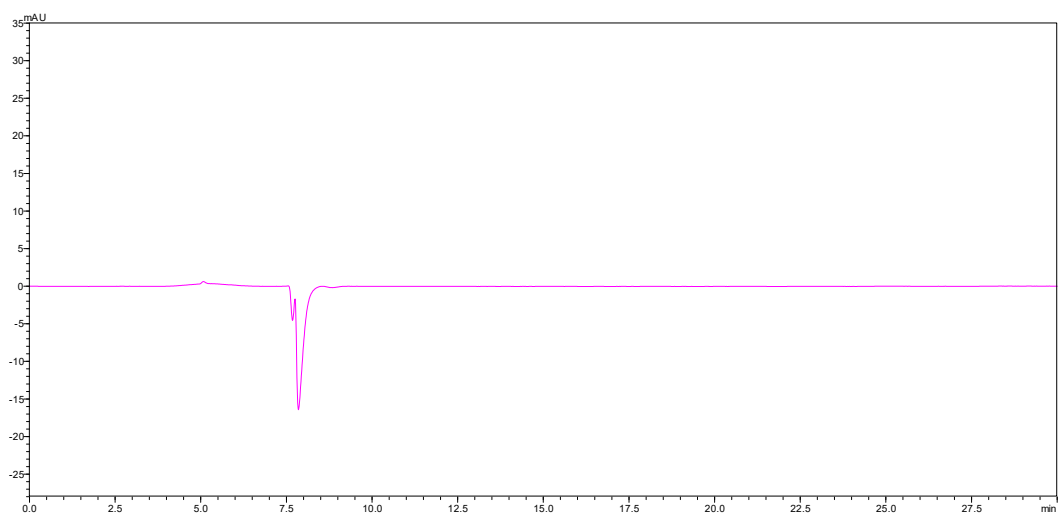


图 A.4 大蒜粉（片）、大蒜片剂、大蒜软膏剂空白溶剂 HPLC 色谱图

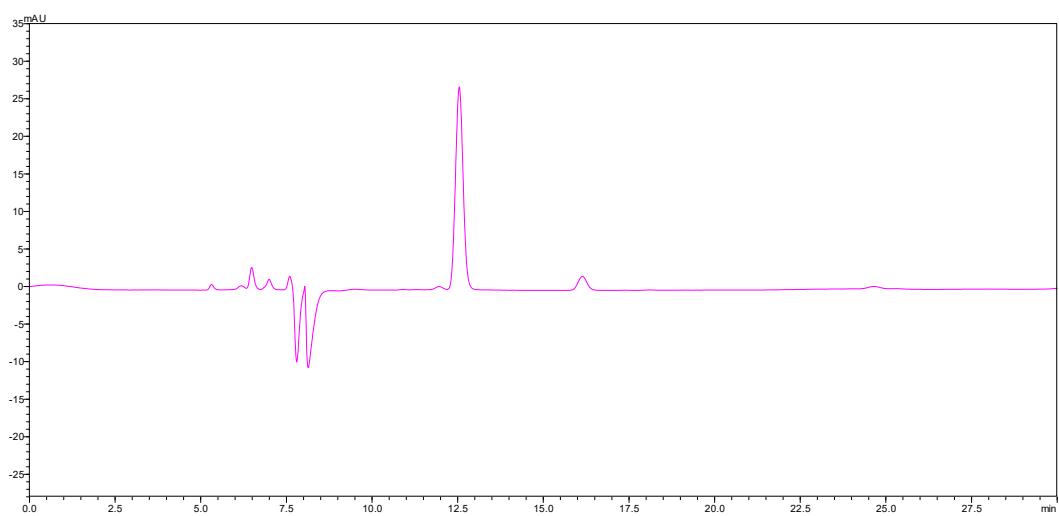


图 A.5 大蒜粉（片）中蒜氨酸 HPLC 色谱图

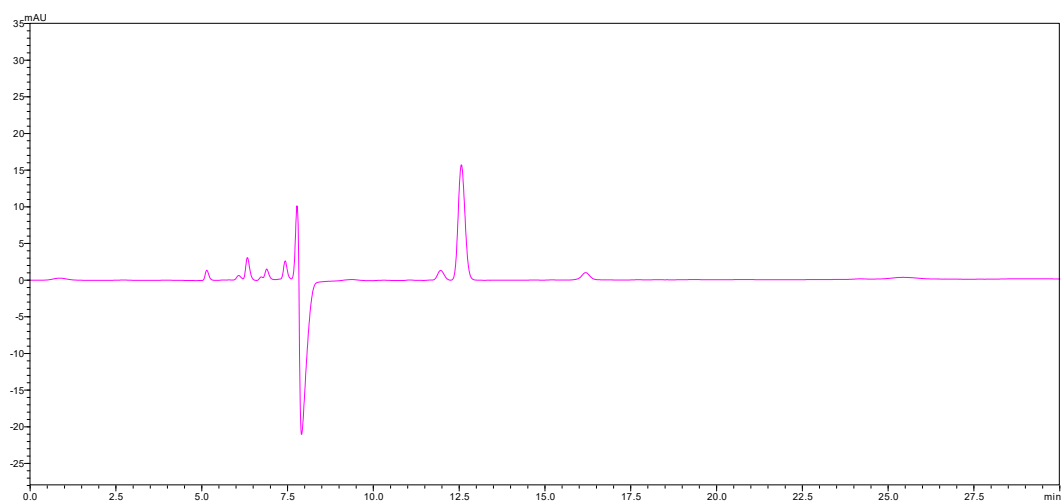


图 A. 6 大蒜片剂中蒜氨酸 HPLC 色谱图

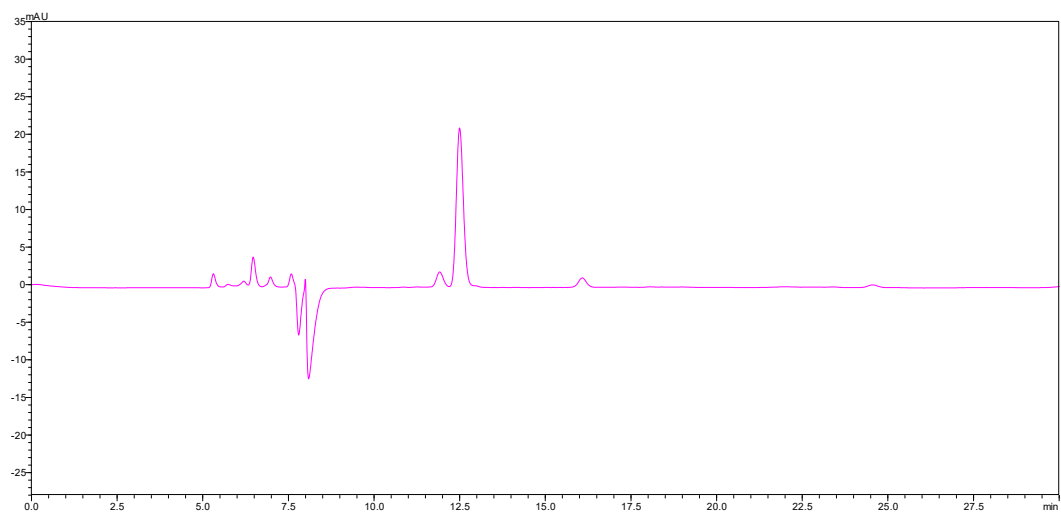


图 A. 7 大蒜软膏剂中蒜氨酸 HPLC 色谱图

参 考 文 献

- [1] T/HAS 105-2020 饲料原料 大蒜粉。
 - [2] DB 65/T 4511-2022 高蒜氨酸含量大蒜质量评价规范。
 - [3] 赵东升, 史荣梅, 陈尚珂, 等. 《中华人民共和国药典》大蒜标准中含量测定的商榷[J]. 医药导报, 2016, 35 (10) : 1117-1120.
 - [4] 陈坚, 李新霞, 等. 《药用大蒜》[M]. 乌鲁木齐: 新疆科学技术出版社, 2023.
-