

# HPLC 法同时测定小根蒜中 8 种碱基和核苷类成分的含量

黄瑜<sup>1,2</sup>, 丁博<sup>2</sup>, 张德全<sup>1</sup>, 谭万森<sup>2</sup>, 周浓<sup>1,2,\*</sup>

(1.大理大学药学与化学学院, 云南大理 671000;

2.重庆三峡学院生物与食品工程学院, 三峡库区道地药材绿色种植与深加工重庆市工程实验室, 重庆 404120)

**摘要:**目的:建立同时测定不同产地、不同部位小根蒜中尿嘧啶、鸟嘌呤、尿苷、腺嘌呤、鸟苷、胸苷、腺苷和 2'-脱氧腺苷 8 种碱基和核苷含量的 HPLC 法。方法:运用 HPLC 法测定 38 份不同部位小根蒜碱基和核苷的含量,并用聚类分析和主成分分析方法,对 14 份小根蒜鳞茎的测定结果进行分析。结果:38 份不同产地、不同部位小根蒜中 8 种碱基和核苷类成分含量在线性范围内的线性关系良好( $r > 0.9995$ ),检出限为  $10.78 \sim 37.62 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ ,定量限为  $35.81 \sim 115.28 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$  及平均回收率为  $97.72\% \sim 100.29\%$ ,  $\text{RSD} < 3\%$ 。小根蒜不同部位均可检测到 8 种碱基和核苷类成分,且不同产地、不同部位小根蒜中 8 种碱基和核苷类成分的质量分数及组成结构比存在明显的差异,部分非入药、非食用部位碱基和核苷含量高于其鳞茎。采用聚类分析能将不同产地的 14 份小根蒜鳞茎分为 2 类,且主成分分析法筛选出重庆市万州区小根蒜鳞茎质量的综合评价最好。结论:该实验方法操作快速、简便,重现性好,可用于不同产地、不同部位小根蒜中 8 种碱基和核苷类成分的含量测定。同时,测定结果为小根蒜不同部位的高效利用提供理论依据。

**关键词:**小根蒜,高效液相色谱法,碱基,核苷,聚类分析,主成分分析

## Simultaneous Determination of Eight Bases and Nucleosides Contents in *Allium macrostemon* Bunge. by HPLC

HUANG Yu<sup>1,2</sup>, DING Bo<sup>2</sup>, ZHANG De-quan<sup>1</sup>, TAN Wan-sen<sup>2</sup>, ZHOU Nong<sup>1,2,\*</sup>

(1.College of Pharmacy and Chemistry, Dali University, Dali 671000, China;

2.College of Food and Biology Engineering, the Chongqing Engineering Laboratory for Green Cultivation and Deep Processing of the Three Gorges Reservoir Area's Medicinal Herbs, Chongqing Three Gorges University, Chongqing 404120, China)

**Abstract:** Objective: To establish a HPLC analytical method on the simultaneous determination of eight bases and nucleosides (uracil, adenine, guanine, uridine, guanosine, thymidine, adenosine and deoxyadenosine 2'-deoxyadenosine) in different parts of *Allium macrostemon* Bunge from different producing areas. Methods: HPLC method was used to determine contents of 38 different parts of *A. macrostemon* samples, and the results of 14 bulbs were analyzed by cluster analysis and principal component analysis. Results: The eight bases and nucleosides in 38 different producing areas and parts of *A. macrostemon* showed a good linear relationship ( $r > 0.9995$ ) within their linear ranges, with the detection limit for  $10.78 \sim 37.62 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ , the limit of quantitation for  $35.81 \sim 115.28 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ , the average recovery for  $97.72\% \sim 100.29\%$  and  $\text{RSD}$  less than  $3\%$ . The eight nucleosides and bases could be detected from different parts of *A. macrostemon*. There were obviously different mass fraction and composition structure in eight bases and nucleosides among different producing areas and parts of *A. macrostemon*, and some non-medicine and non-food parts were higher than the bulb. 14 bulbs from different habitats could be divided into two categories for by cluster analysis. Moreover, principal component analysis showed that comprehensive quality of bulbs produced in Wanzhou in Chongqing province was best. Conclusion: This was a fast and simple method with good reproducibility, and it was appropriate for measuring contents of the eight nucleosides. Meanwhile, the results provided theoretical basis for efficient utilization on different parts of *A. macrostemon*.

**Key words:** *Allium macrostemon* Bunge; HPLC; bases; nucleosides; cluster analysis; principal component analysis

中图分类号: TS207.3

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2018)15-0249-07

doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2018.15.044

收稿日期: 2017-12-04

作者简介: 黄瑜(1993-), 女, 硕士研究生, 研究方向: 分子生药学, E-mail: information93@163.com。

\* 通讯作者: 周浓(1978-), 男, 硕士, 教授, 研究方向: 药用植物栽培与质量控制, E-mail: erhaizn@126.com。

基金项目: 国家自然科学基金项目(81260622)。

引文格式:黄瑜,丁博,张德全,等.HPLC法同时测定小根蒜中8种碱基和核苷类成分的含量[J].食品工业科技,2018,39(15):249-254,259.

小根蒜(*Allium macrostemon* Bunge.)为百合科葱属多年生草本植物<sup>[1]</sup>,始载于《神农本草经》,列为中品<sup>[2]</sup>,为《中国药典》(2015年版一部)收载品薤白来源之一,以鳞茎入药,具有通阳散结,行气导滞之功效<sup>[3]</sup>。现代研究表明,小根蒜中含有挥发油、甾体皂苷、含氮化合物(包括腺苷、胸苷等)、含硫化合物、多糖等化学成分<sup>[4-7]</sup>,具有抗肿瘤、抗炎、延缓衰老、扩张血管、提高机体免疫力等药理作用<sup>[8-12]</sup>。

核苷类成分是细胞的重要组成部分,作为生物活性成分,其对机体的免疫系统、代谢系统、神经系统及心血管系统等有着很强的调节作用,是改善人类健康和预防疾病的重要组成部分之一<sup>[13]</sup>。小根蒜(薤白)作为传统的药食同源植物,应用多以水为溶剂进行加工,其水溶性活性成分的生物活性研究已受到一定的关注,小根蒜具有紫外吸收的水溶性成分主要是核苷类物质<sup>[14-16]</sup>。因此,小根蒜所含核苷类成分可作为小根蒜质量评价指标之一,核苷类成分已被证实是重要的生物活性成分,与小根蒜生物活性(抗肿瘤、抗氧化、增强免疫功能等)<sup>[8-12]</sup>具有一定的关联性。目前,针对小根蒜(薤白)中核苷类含量的检测报道较多<sup>[14-16]</sup>,但对不同产地、不同部位小根蒜中尿嘧啶、鸟嘌呤、腺嘌呤、胸苷、2'-脱氧腺苷8种碱基和核苷的同时测定未见报道。为此,本文采用HPLC法同时测定不同产地小根蒜中8种碱基和核苷类含量,对小根蒜的质量评价标准进行补充。

## 1 材料与方 法

### 1.1 材料与仪器

小根蒜植株 2014年09月至2014年10月,自采或委托采集于重庆市万州区新乡镇等小根蒜种植基地,经重庆三峡学院生物与食品工程学院周浓教授鉴定为百合科葱属小根蒜*Allium macrostemon*的干

燥全株(见表1);小根蒜洗净后,35℃下烘箱烘干,粉碎后过50目筛。尿嘧啶对照品(批号:100469-200401)、鸟嘌呤对照品(批号:140631-201205)、尿苷对照品(批号:110887-200202)、腺嘌呤对照品(批号:886-200001)、胸苷对照品(批号:101215-201401)、腺苷对照品(批号:110879-200202)由中国食品药品检定研究院提供;鸟苷对照品、2'-脱氧腺苷对照品纯度>98%,南京都莱生物技术有限公司;甲醇色谱纯 德国Merck公司,水 娃哈哈牌纯净水。

LC-20A型高效液相色谱仪、PDA检测器 日本岛津集团;SB-12D型超声波清洗机 宁波新芝生物科技股份有限公司;TDZ4-WS型多管架自动平衡离心机 湖南平凡科技有限公司;ML204型分析天平 梅特勒-托利多仪器上海有限公司。

### 1.2 实验方法

1.2.1 对照品溶液的制备 分别称取尿嘧啶、鸟嘌呤、尿苷、腺嘌呤、鸟苷、胸苷、腺苷、2'-脱氧腺苷对照品,加纯净水溶解对照品,并制成质量浓度分别为40.00、21.00、330.00、22.00、399.00、118.00、118.00、103.00 μg/mL的对照品溶液,用0.45 μm混合纤维素微孔滤膜滤过,备用。

1.2.2 供试品溶液的制备 精密称取小根蒜样品粉末(过50目筛)0.5 g,置100 mL具塞锥形瓶中,精密加蒸馏水25 mL,混匀,25℃室温下超声提取60 min(超声功率600 W,工作频率40 kHz),放至室温,摇匀,倒入离心管中,离心10 min(4000 r·min<sup>-1</sup>),用0.45 μm微孔滤膜过滤,即得到供试品溶液。

1.2.3 色谱条件 色谱柱为Venusil MP C<sub>18</sub>(2)柱(4.6 mm×250 mm,5 μm);流动相为A相为甲醇,B相为水,梯度洗脱(0 min→10 min→15 min→20 min→30 min,1% A→5% A→15% A→20% A→30% A);检测波长:260 nm;体积流量:1.0 mL/min;进样

表1 样品来源  
Table 1 Sample source

编号	采集地点	部位	采集时间
S1	重庆市万州区新乡镇	鳞茎 - - -	2014.09.15
S2	重庆市忠县白石镇	鳞茎 - - 叶	2014.10.12
S3	重庆市大足区宝顶镇	鳞茎 须根 茎 叶	2014.09.08
S4	四川省宜宾县观音镇合众村	鳞茎 须根 茎 叶	2014.10.11
S5	贵州省织金县黑土乡	鳞茎 须根 - -	2014.10.07
S6	贵州省毕节市大银镇	鳞茎 须根 茎 叶	2014.10.07
S7	云南省宣威市双河镇丁家村	鳞茎 须根 茎 叶	2014.10.01
S8	江西省抚州市崇岗镇	鳞茎 - - 叶	2014.10.10
S9	湖南省怀化市杨村乡	鳞茎 须根 茎 叶	2014.09.25
S10	湖南省湘西州三岔坪农场	鳞茎 - - -	2014.09.27
S11	安徽省绩溪县长安镇	鳞茎 须根 - 叶	2014.09.14
S12	安徽省铜陵市天门山	鳞茎 - - 叶	2014.10.02
S13	吉林省长白朝鲜族自治县金华乡	鳞茎 须根 - 叶	2014.09.18
S14	辽宁省锦州市北壕村	鳞茎 须根 茎 缺	2014.10.09

注:“-”表示该样品的相应部位缺失。

量:10  $\mu\text{L}$ ;柱温:35  $^{\circ}\text{C}$ 。

1.2.4 检出限和定量限 将制备好的对照品溶液进行逐级稀释后,依次进样 10  $\mu\text{L}$ ,当信噪比等于 3 时,所对应的对照品溶液的质量浓度为最低检出限;当信噪比等于 10 时,所对应的对照品溶液的质量浓度为最低定量限。

### 1.3 数据处理

采用 SPSS 23.0 软件对不同产地的 14 份小根蒜鳞茎中 8 种碱基和核苷的含量进行聚类分析和主成分分析。

## 2 结果与分析

### 2.1 对照品和供试品色谱分离图

按照上述色谱条件进行分析,各成分分离度良好,混合对照品和小根蒜样品(S10)色谱图见图 1。

### 2.2 标准曲线方程

线性回归方程、相关系数、线性范围、检出限及定量限结果见表 2。

### 2.3 精密度

取同一混合对照品溶液 10  $\mu\text{L}$ ,按 1.2.3 项下色谱条件连续进样 6 次,通过各对照品得到的峰面积来计算 RSD(相对标准偏差),以此考察仪器的精密度。由表 3 可知 RSD 均小于 2%,表明该方法精密度良好。

### 2.4 重复性

精密称取同一小根蒜鳞茎样品 6 份(S10),每份 0.5 g,按 1.2.2 项下方法平行制备供试品溶液及按 1.2.3 项下色谱条件进行分析,分别进样 10  $\mu\text{L}$ 。记录各核苷峰面积并计算其 RSD,由表 4 可知 RSD 均小于 3%,表明此方法重复性良好。

### 2.5 稳定性

取同一供试品溶液(S10)在室温条件下密闭放

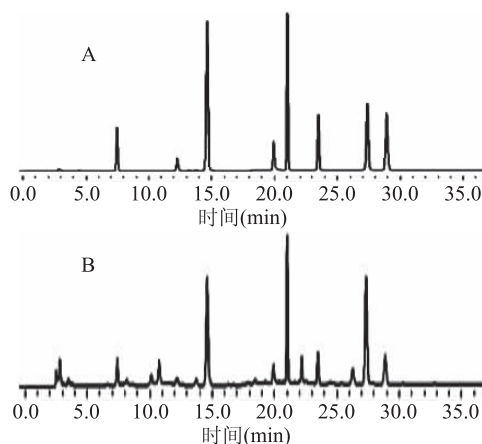


图 1 核苷混合对照品(A)及小根蒜样品(B)的 HPLC 图谱

Fig.1 The chromatogram of reference substances(A)and sample(B)

注:1.尿嘧啶;2.鸟嘌呤;3.尿苷;4.腺嘌呤;5.鸟苷;6.胸苷;7.腺苷;8.2'-脱氧腺苷。

置,于 0、4、8、12、16、20 h 进行分别测定尿嘧啶、鸟嘌呤、尿苷、腺嘌呤、鸟苷、胸苷、腺苷、2'-脱氧腺苷,记录各核苷峰面积并计算其 RSD,由表 5 可知 RSD 均小于 3%,表明供试品溶液在 20 h 内稳定性良好。

### 2.6 加样回收率实验

称取已知含量的小根蒜鳞茎粉末约 0.25 g (S10),共 6 份,分别精密依次加入 1.2.1 项下各核苷对照品贮备溶液适量,按 1.2.2 项下方法制备供试品溶液,在 1.2.3 项下色谱条件下进样,计算各成分的加样回收率和 RSD,在验证本方法的准确性,计算加样回收率,结果见表 6。结果表明,小根蒜(S10)中 8 种碱基和核苷的平均回收率在 97.72%~100.29%,RSD 为 1.44%~2.97%,符合分析要求。表明该方法的准

表 2 8 种对照品的线性方程、线性范围、检出限及定量限

Table 2 The liner equation, ranges, detection limits and quantitative limits of eight reference substances

成分	回归方程	r	线性范围( $\mu\text{g/mL}$ )	检出限( $\text{ng/mL}$ )	定量限( $\text{ng/mL}$ )
尿嘧啶	$y = 87785.535x - 1206.278$	0.999 9	0.20~4.00	16.68	56.64
鸟嘌呤	$y = 65815.882x - 2409.397$	0.999 6	0.105~2.10	12.08	40.82
尿苷	$y = 49641.389x - 4279.910$	0.999 9	1.65~33.00	10.78	35.81
腺嘌呤	$y = 131660.684x - 2999.298$	0.999 9	0.11~2.20	15.36	51.22
鸟苷	$y = 26173.085x - 3382.195$	0.999 9	1.995~39.90	32.81	98.16
胸苷	$y = 43260.060x + 2647.989$	0.999 5	0.59~11.80	37.62	115.28
腺苷	$y = 67502.617x - 2601.804$	0.999 9	0.59~11.80	29.84	99.63
2'-脱氧腺苷	$y = 69979.118x - 2107.671$	0.999 9	0.515~10.30	26.32	82.12

表 3 精密度实验结果

Table 3 The results of precision experiment

成分	尿嘧啶	鸟嘌呤	尿苷	腺嘌呤	鸟苷	胸苷	腺苷	2'-脱氧腺苷
RSD(%)	0.31	0.49	0.33	0.42	0.23	0.11	0.23	0.21

表 4 重复性实验结果

Table 4 The results of reproducibility experiment

成分	尿嘧啶	鸟嘌呤	尿苷	腺嘌呤	鸟苷	胸苷	腺苷	2'-脱氧腺苷
RSD(%)	0.67	1.93	0.59	2.13	2.03	1.05	2.61	1.26

表5 稳定性实验结果

Table 5 The results of stability experiment

成分	尿嘧啶	鸟嘌呤	尿苷	腺嘌呤	鸟苷	胸苷	腺苷	2'-脱氧腺苷
RSD (%)	0.72	2.91	2.21	0.80	2.44	2.06	1.58	1.63

表6 小根蒜中8种碱基和核苷的加样回收率实验(n=6)

Table 6 Recovery test of 8-component in *Allium macrostemon* Bunge (n=6)

化合物	加入量 ( $\mu\text{g}$ )	平均回收率 (%)	RSD (%)	化合物	加入量 ( $\mu\text{g}$ )	平均回收率 (%)	RSD (%)
尿嘧啶	8.000	99.49	2.47	鸟苷	119.700	98.53	2.86
	8.000				119.700		
	8.000				119.700		
	8.000				119.700		
	8.000				119.700		
	8.000				119.700		
鸟嘌呤	4.200	98.56	1.44	胸苷	23.600	98.73	2.97
	4.200				23.600		
	4.200				23.600		
	4.200				23.600		
	4.200				23.600		
	4.200				23.600		
尿苷	82.500	99.86	2.80	腺苷	64.900	100.29	1.94
	82.500				64.900		
	82.500				64.900		
	82.500				64.900		
	82.500				64.900		
	82.500				64.900		
腺嘌呤	6.600	97.72	1.56	2'-脱氧腺苷	20.600	99.88	2.37
	6.600				20.600		
	6.600				20.600		
	6.600				20.600		
	6.600				20.600		
	6.600				20.600		

确度较高,能应用于小根蒜中8种碱基和核苷的检测与分析。

## 2.7 样品含量测定

不同产地、不同部位小根蒜中8种碱基和核苷的含量结果见表7。结果表明:不同产地、不同部位小根蒜中核苷类成分较类似,均含有尿嘧啶、鸟嘌呤、尿苷、腺嘌呤、鸟苷、胸苷、腺苷、2'-脱氧腺苷,不同产地小根蒜中8种碱基和核苷类成分的含量均存在较大的差异,但各核苷类成分无论是含量还是各成分的比例并没有明显的规律,这与潘兴娇等<sup>[17]</sup>对云南重楼中核苷类成分的研究结果相一致。以核苷总量为评价指标,重庆市大足县(S3)、江西省抚州市(S8)、湖南省怀化市(S9)、安徽省绩溪县(S11)含量较高,与刘红等<sup>[14-15]</sup>的报道结果相一致,是否与生态环境、种质资源、田间管理等有关<sup>[15-16]</sup>,有待进一步深入研究。因此,进行小根蒜规模化栽培时,栽培基地的选择对小根蒜的品质形成具有重大影响,本研究结果将对小根蒜的栽培基地选择具有一定的参考意义。同时,尿苷、鸟苷、腺苷为其核苷类物质的主要

成分,其含量远远高于其他核苷类物质,胸苷和2'-脱氧腺苷含量次之,尿嘧啶、鸟嘌呤、腺嘌呤含量最少,这与小根蒜<sup>[13]</sup>、薤(藠头)<sup>[15]</sup>的水溶性成分的研究结果一致。

由表7还可知,须根、茎、叶中8种碱基和核苷平均总含量超过鳞茎,同一产地不同部位的8种碱基和核苷总量部分超过传统入药部位(食用部位),特别是茎、叶生物量较大,提示这些部位均可作为核苷提取物的制备原料。但《中国药典》(2015年版)规定薤白采收时除去须根,从核苷类成分的相对含量来看是否合理,值得进一步商榷<sup>[3]</sup>。

## 2.8 聚类分析

分别取14批小根蒜鳞茎的含量测定结果进行聚类分析。以表8中小根蒜鳞茎中尿嘧啶、鸟嘌呤、尿苷、腺嘌呤、鸟苷、胸苷、腺苷、2'-脱氧腺苷及总含量为依据,通过SPSS23.0版本软件欧式距离平方(squared Euclidean distance)计算样品间的相似系数,并用离差平方和法(Ward法)进行系统聚类,结果见图2。

表7 不同产地、不同部位小根蒜中8种成分的含量(μg·g<sup>-1</sup>, n=3)

Table 7 The content of eight components of *Allium macrostemon* sample of different origins and different parts(μg·g<sup>-1</sup>, n=3)

部位	编号	尿嘧啶	鸟嘌呤	尿苷	腺嘌呤	鸟苷	胸苷	腺苷	2'-脱氧腺苷	合计	
鳞茎	S1	22.973 ± 0.042	82.045 ± 0.003	455.138 ± 0.086	68.539 ± 0.044	711.106 ± 0.003	143.375 ± 0.127	380.024 ± 0.012	124.490 ± 0.095	1153.521 ± 0.001	
	S2	9.802 ± 0.011	16.279 ± 0.003	172.586 ± 0.079	28.408 ± 0.044	333.161 ± 0.022	56.287 ± 0.010	179.821 ± 0.021	39.098 ± 0.031	835.433 ± 0.032	
	S3	8.048 ± 0.158	7.486 ± 0.221	305.338 ± 0.021	21.786 ± 0.026	693.681 ± 0.001	83.975 ± 0.050	339.217 ± 0.006	74.259 ± 0.017	1533.790 ± 0.006	
	S4	19.506 ± 0.055	15.435 ± 0.038	256.641 ± 0.028	14.551 ± 0.013	554.608 ± 0.020	45.860 ± 0.088	264.906 ± 0.012	37.311 ± 0.068	1208.818 ± 0.021	
	S5	4.491 ± 0.004	44.647 ± 0.004	508.587 ± 0.033	3.951 ± 0.023	373.368 ± 0.010	51.487 ± 0.009	149.625 ± 0.001	62.132 ± 0.020	1198.288 ± 0.015	
	S6	11.321 ± 0.016	13.966 ± 0.068	150.294 ± 0.031	16.706 ± 0.142	391.700 ± 0.025	48.069 ± 0.085	174.842 ± 0.040	36.021 ± 0.016	842.920 ± 0.018	
	S7	22.094 ± 0.018	4.459 ± 0.053	107.299 ± 0.015	7.975 ± 0.752	285.432 ± 0.112	36.410 ± 0.033	128.842 ± 0.008	33.023 ± 0.057	625.534 ± 0.041	
	S8	58.163 ± 0.003	55.670 ± 0.090	313.774 ± 0.051	86.877 ± 0.082	405.982 ± 0.003	193.009 ± 102	179.427 ± 0.045	190.851 ± 0.211	1483.753 ± 0.043	
	S9	9.438 ± 0.023	5.919 ± 0.198	470.865 ± 0.011	22.311 ± 0.003	566.402 ± 0.001	100.426 ± 0.052	286.553 ± 0.000	70.748 ± 0.011	1532.662 ± 0.008	
	S10	36.098 ± 0.035	20.608 ± 0.067	319.936 ± 0.026	23.877 ± 0.020	514.131 ± 0.034	99.090 ± 0.038	254.060 ± 0.033	84.153 ± 0.057	1351.953 ± 0.029	
	S11	23.816 ± 0.007	5.772 ± 0.013	332.677 ± 0.011	14.404 ± 0.012	659.147 ± 0.009	71.728 ± 0.036	332.476 ± 0.009	60.791 ± 0.068	1500.810 ± 0.013	
	S12	8.895 ± 0.091	10.846 ± 0.021	235.340 ± 0.005	37.482 ± 0.004	549.305 ± 0.014	32.599 ± 0.089	251.518 ± 0.007	27.536 ± 0.021	1153.521 ± 0.001	
	S13	12.052 ± 0.046	7.432 ± 0.157	249.575 ± 0.027	19.196 ± 0.024	555.636 ± 0.018	105.513 ± 0.007	264.285 ± 0.020	77.667 ± 0.015	1291.356 ± 0.018	
	S14	9.186 ± 0.062	11.398 ± 0.059	219.656 ± 0.064	17.890 ± 0.082	475.677 ± 0.051	97.229 ± 0.025	231.472 ± 0.056	75.536 ± 0.035	1138.044 ± 0.042	
平均值	18.277	21.569	292.693	27.425	504.953	83.218	244.076	70.973	1203.600		
须根	S3	11.384 ± 0.036	12.969 ± 0.260	266.682 ± 0.076	21.736 ± 0.074	502.470 ± 0.003	134.698 ± 0.017	225.556 ± 0.032	306.321 ± 0.003	1481.816 ± 0.021	
	S4	8.416 ± 0.216	12.739 ± 0.022	376.295 ± 0.035	43.531 ± 0.023	784.882 ± 0.029	143.323 ± 0.034	334.961 ± 0.038	112.389 ± 0.047	1816.536 ± 0.033	
	S5	26.960 ± 0.033	40.638 ± 0.159	527.331 ± 0.007	37.915 ± 0.019	825.679 ± 0.005	183.395 ± 0.038	410.027 ± 0.026	138.874 ± 0.011	2190.820 ± 0.000	
	S6	14.575 ± 0.086	18.558 ± 0.083	131.301 ± 0.001	13.847 ± 0.045	229.379 ± 0.014	70.491 ± 0.038	98.718 ± 0.019	52.357 ± 0.061	629.226 ± 0.016	
	S7	6.199 ± 0.087	11.468 ± 0.010	89.469 ± 0.011	12.699 ± 0.017	139.603 ± 0.025	70.099 ± 0.027	69.884 ± 0.033	48.988 ± 0.045	448.410 ± 0.024	
	S9	13.848 ± 0.011	16.028 ± 0.003	357.548 ± 0.001	31.323 ± 0.002	535.670 ± 0.014	146.741 ± 0.011	262.511 ± 0.014	178.335 ± 0.156	1542.004 ± 0.010	
	S11	20.081 ± 0.188	60.832 ± 0.062	922.882 ± 0.238	63.446 ± 0.237	1763.031 ± 0.270	434.254 ± 0.256	821.018 ± 0.248	491.570 ± 0.288	4577.114 ± 0.256	
	S13	11.922 ± 0.022	13.628 ± 0.017	396.114 ± 0.109	47.413 ± 0.135	802.404 ± 0.060	103.415 ± 0.074	380.362 ± 0.049	91.831 ± 0.044	1847.088 ± 0.070	
	S14	4.203 ± 0.087	3.955 ± 0.012	123.297 ± 0.065	9.374 ± 0.021	257.294 ± 0.004	38.074 ± 0.008	137.064 ± 0.008	32.103 ± 0.015	605.388 ± 0.008	
	平均值	13.065	21.202	354.547	31.254	648.935	147.166	304.456	161.419	1682.045	
	茎	S3	17.355 ± 0.021	32.775 ± 0.291	793.864 ± 0.042	46.956 ± 0.028	1805.556 ± 0.043	344.776 ± 0.042	862.861 ± 0.040	450.778 ± 0.064	4354.922 ± 0.046
		S4	74.731 ± 0.116	65.013 ± 0.099	1020.977 ± 0.004	35.427 ± 0.172	1847.057 ± 0.104	235.620 ± 0.096	898.074 ± 0.109	222.652 ± 0.130	4399.551 ± 0.079
		S6	24.729 ± 0.048	23.986 ± 0.207	658.002 ± 0.173	49.172 ± 0.183	1563.823 ± 0.056	209.045 ± 0.142	630.504 ± 0.021	159.906 ± 0.079	3319.167 ± 0.076
		S7	45.174 ± 0.033	36.083 ± 0.146	485.381 ± 0.204	42.599 ± 0.075	824.939 ± 0.022	186.755 ± 0.039	422.592 ± 0.038	154.847 ± 0.101	2198.369 ± 0.076
S9		19.938 ± 0.042	10.076 ± 0.033	543.542 ± 0.015	21.690 ± 0.261	572.941 ± 0.029	176.243 ± 0.031	371.475 ± 0.014	110.994 ± 0.078	1826.899 ± 0.013	
平均值		36.385	33.587	700.353	39.169	1322.863	230.488	637.101	219.835	3219.782	
叶		S2	38.079 ± 0.023	37.659 ± 0.020	554.742 ± 0.023	49.054 ± 0.018	914.413 ± 0.032	184.048 ± 0.010	470.387 ± 0.031	355.038 ± 0.034	2603.419 ± 0.028
		S3	30.692 ± 0.045	93.835 ± 0.223	461.808 ± 0.057	105.338 ± 0.092	452.985 ± 0.062	165.105 ± 0.084	157.898 ± 0.023	120.006 ± 0.012	1587.667 ± 0.066
		S4	17.704 ± 0.156	6.543 ± 0.028	311.961 ± 0.075	41.239 ± 0.087	97.985 ± 0.053	144.172 ± 0.072	300.528 ± 0.090	120.854 ± 0.094	1040.984 ± 0.026
		S6	26.034 ± 0.069	19.089 ± 0.048	445.550 ± 0.001	26.185 ± 0.231	954.308 ± 0.035	215.329 ± 0.149	502.945 ± 0.035	231.064 ± 0.163	2420.503 ± 0.020
		S7	51.863 ± 0.007	80.895 ± 0.402	226.377 ± 0.067	39.823 ± 0.030	358.839 ± 0.001	164.313 ± 0.024	155.851 ± 0.002	108.955 ± 0.052	1186.917 ± 0.039
		S8	19.809 ± 0.098	12.282 ± 0.207	233.550 ± 0.090	14.549 ± 0.027	556.269 ± 0.078	183.889 ± 0.092	329.229 ± 0.058	222.149 ± 0.141	1571.726 ± 0.086
		S9	41.295 ± 0.029	12.726 ± 0.125	490.324 ± 0.027	28.609 ± 0.022	652.330 ± 0.057	145.862 ± 0.050	371.895 ± 0.121	132.530 ± 0.099	1875.572 ± 0.050
		S11	43.076 ± 0.242	5.636 ± 0.022	250.375 ± 0.104	11.618 ± 0.034	739.872 ± 0.066	98.483 ± 0.096	399.226 ± 0.036	84.580 ± 0.154	1632.000 ± 0.075
	S12	14.881 ± 0.157	5.031 ± 0.015	408.605 ± 0.012	30.795 ± 0.160	565.465 ± 0.143	156.073 ± 0.157	345.338 ± 0.149	135.685 ± 0.152	1661.875 ± 0.114	
	S13	15.094 ± 0.016	22.252 ± 0.116	542.720 ± 0.055	27.189 ± 0.052	1152.224 ± 0.010	157.865 ± 0.065	528.026 ± 0.013	421.351 ± 0.005	2866.821 ± 0.013	
	平均值	29.853	29.595	392.601	37.440	644.469	161.514	356.132	193.221	1844.748	

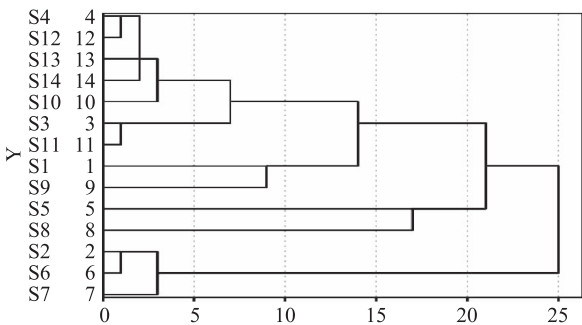


图2 HPLC法同时测定小根蒜鳞茎中8种碱基和核苷类成分含量的聚类分析树状图  
Fig.2 Dendrogram of cluster analysis of eight bases and nucleosides contents in the bulb of *Allium macrostemon* by HPLC

由图2可知,当分类距离为22时,可将14批小根蒜鳞茎分为2类:第一类有11批样品,即S1、S3-

S5、S8-S14,此枝干样品中8种碱基和核苷总含量均数均高于小根蒜鳞茎中的平均值;第二类有3批样品,即S2、S6、S7,此枝干样品中8种碱基和核苷成分总含量均数远低于平均值。结果见表8。

### 2.9 核苷的主成分分析

应用SPSS 23.0统计分析软件对不同产地小根蒜8种碱基和核苷成分含量进行主成分分析。结果见表9,本文采取特征根大于1为提取标准,因此得到2个主成分,且两个主成分的累积贡献率为78.73%。第3个主成分特征根虽然小于1,但前3个主成分的累计贡献率可达到89.63%,因此根据主成分的选取原则,可以选取前3个主成分代替原始指标进行分析。其中,第1主成分特征根λ=4.195,方差贡献率为52.44%,贡献率最大,包含的信息量大。第2主成分λ=2.103,方差贡献率为26.29%。第3主成分λ=0.872,方差贡献率为10.90%。3个主成分载荷图见图3。

表8 不同产地小根蒜鳞茎中8种碱基和核苷类成分含量聚类分析的不同组别各组分的平均含量( $\mu\text{g/g}$ )Table 8 The average contents of eight bases and nucleosides contents in four groups sorted by cluster analysis of bulb of *Allium macrostemon* of different locations( $\mu\text{g/g}$ )

分类	产地	尿嘧啶	鸟嘌呤	尿苷	腺嘌呤	鸟苷	胸苷	腺苷	2'-脱氧腺苷	合计
1	S1、S3~S5、S8~S14	19.333	24.296	333.412	30.079	550.822	93.117	266.688	80.498	1398.244
2	S2、S6、S7	14.406	11.568	143.39	17.696	336.764	46.922	161.168	36.047	767.965

表9 不同产地小根蒜鳞茎中8种碱基和核苷综合评价

Table 9 Comprehensive evaluation of eight bases and nucleosides of bulb of *Allium macrostemon* of different locations

编号	$C_1$ 得分	$C_2$ 得分	$C_3$ 得分	$\omega_1$ (%)	$\omega_2$ (%)	$\omega_3$ (%)	综合得分	排名
S1	4.053	1.528	-0.657	52.437	26.290	10.898	2.454	1
S2	-1.558	-1.236	-0.104	52.437	26.290	10.898	-1.153	12
S3	0.021	1.962	0.684	52.437	26.290	10.898	0.602	3
S4	-0.996	0.559	0.332	52.437	26.290	10.898	-0.339	8
S5	-0.758	-0.271	-2.898	52.437	26.290	10.898	-0.784	11
S6	-1.868	-0.991	0.101	52.437	26.290	10.898	-1.228	13
S7	-2.454	-2.078	0.323	52.437	26.290	10.898	-1.797	14
S8	4.701	-2.998	0.462	52.437	26.290	10.898	1.725	2
S9	0.201	1.365	-0.579	52.437	26.290	10.898	0.401	5
S10	0.733	-0.274	0.390	52.437	26.290	10.898	0.354	6
S11	-0.052	1.578	0.770	52.437	26.290	10.898	0.472	4
S12	-1.225	0.540	0.336	52.437	26.290	10.898	-0.463	10
S13	-0.200	0.467	0.000	52.437	26.290	10.898	0.018	7
S14	-0.599	-0.150	0.000	52.437	26.290	10.898	-0.353	9

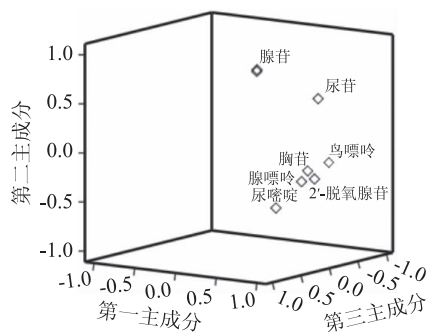


图3 不同产地小根蒜鳞茎中主成分载荷图

Fig.3 Loading diagram of bulb of

*Allium macrostemon* from different locations

将SPSS 23.0软件给出的因子负荷除以主成分相对应的特征根的平方根,便得到3个主成分中每个指标所对应的系数,表达式如下: $C_1 = 0.334X$  尿嘧啶 +  $0.380X$  鸟嘌呤 +  $0.261X$  尿苷 +  $0.425X$  腺嘌呤 +  $0.193X$  鸟苷 +  $0.453X$  胸苷 +  $0.199X$  腺苷 +  $0.461X$  2'-脱氧腺苷;  $C_2 = -0.340X$  尿嘧啶 -  $0.086X$  鸟嘌呤 +  $0.323X$  尿苷 -  $0.160X$  腺嘌呤 +  $0.604X$  鸟苷 -  $0.082X$  胸苷 +  $0.594X$  腺苷 -  $0.148X$  2'-脱氧腺苷;  $C_3 = 0.352X$  尿嘧啶 -  $0.484X$  鸟嘌呤 -  $0.669X$  尿苷 +  $0.154X$  腺嘌呤 +  $0.267X$  鸟苷 +  $0.122X$  胸苷 +  $0.289X$  腺苷 +  $0.025X$  2'-脱氧腺苷。第1主成分 $C_1$ 与8个碱基和核苷类成分都呈正相关,其中与胸苷、2'-脱氧腺苷的正相关性较强。且3个主成分中,第1主成分贡献率最大,说明胸苷、2'-脱氧腺苷2个成分在小根蒜鳞茎中核苷类的质量控制方面起着重要作用。

将小根蒜鳞茎每种核苷类测的含量进行标准

化,再将标准化后的值放入到3个主成分( $C_1$ 、 $C_2$ 、 $C_3$ )方程中计算,得到样品主成分得分。然后构建综合评价函数(F):  $F_j = \omega_1 C_1 + \omega_2 C_2 + \omega_3 C_3$ 。式中 $C_1$ 、 $C_2$ 、 $C_3$ 为前三个主成分得分; $\omega_1$ 、 $\omega_2$ 、 $\omega_3$ 分别为前三个主成分信息贡献率。综合得分见表9。

由表9可知,来自相同省区的不同产地小根蒜(鳞茎)中8种碱基和核苷的综合评价也有显著差异,如重庆市万州区(S1)综合评价排名第1,重庆市大足区(S3)综合评价排名第3,而重庆市忠县综合评价排名第12。进一步表明小根蒜的品质表现出一定的地域和生境依赖性。

### 3 结论

本实验首次建立了同时测定不同产地、不同部位小根蒜中8种碱基和核苷类成分含量的HPLC法,所建立方法能使不同样品中8个指标成分均能得到良好分离,并且利用聚类分析和主成分分析方法对各地区小根蒜中含碱基和核苷的量给出了评价,为后期的质量评价及不同产地、不同部位的样品分析提供一种可靠有效的手段。结果表明,38份不同产地、不同部位小根蒜中8种碱基和核苷类成分含量在线性范围内的线性关系良好( $r > 0.9995$ ),检出限为 $10.78 \sim 37.62 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ ,定量限为 $35.81 \sim 115.28 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ 及平均回收率为 $97.72\% \sim 100.29\%$ , $\text{RSD} < 3\%$ 。小根蒜不同部位均可检测到8种碱基和核苷类成分,且不同产地、不同部位小根蒜中8种碱基和核苷类成分的质量分数及组成结构比存在明显的差异,部分非入药、食用部位碱基和核苷含量高于其鳞茎。采用聚类分析能将不同产地的14份小根蒜鳞茎分

(下转第259页)

温至 300 ℃。在该分析条件下,得到的 EPA 的出峰时间是 10.015 min, DHA 的出峰时间是 16.500 min。该法与国标 GB5009.168-2016 中的脂肪酸色谱分析方法相比,具有针对性强(可快速检测 EPA、DHA)、准确性高、重现性好和快速高效的特点,样品分析时间由 82 min 缩短至 18 min。在最佳分析条件下,超声强化亚临界水萃取法、超声波辅助溶剂萃取法、酶解提取法和超临界 CO<sub>2</sub> 萃取法获得鱼油中含有的 EPA 的检出量依次是 54.67、35.23、40.13、33.40 mg/g, DHA 的检出量依次是 134.01、77.50、102.30、67.31 mg/g。

### 参考文献

- [1] Mocellin M C, Camargo C Q, Fabre M E S, et al. Fish oil effects on quality of life, body weight and free fat mass change in gastrointestinal cancer patients undergoing chemotherapy: A triple blind, randomized clinical trial[J]. Journal of Functional Foods, 2017, 31: 113-122.
- [2] Torrecillas S, Caballero M J, Mompel D, et al. Disease resistance and response against *Vibrio anguillarum* intestinal infection in European seabass (*Dicentrarchus labrax*) fed low fish meal and fish oil diets[J]. Fish & Shellfish Immunology, 2017, 67: 302-311.
- [3] Llop-Talaveron J M, Badiá-Tahull M B, Leiva-Badosa E, et al. Parenteral fish oil and liver function tests in hospitalized adult patients receiving parenteral nutrition: A propensity score-matched analysis [J]. Clinical Nutrition, 2017, 36 (4): 1082-1088.
- [4] 郑峰, 阳亮, 叶宏伟, 等. ω-3 鱼油脂肪乳剂及乌司他丁对重症患者炎症反应及细胞免疫的影响[J]. 现代医学, 2017 (5): 637-640.
- [5] Kuvendziev S, Lisichkov K, Zeković Z, et al. Supercritical fluid extraction of fish oil from common carp (*Cyprinus carpio* L.) tissues [J]. The Journal of Supercritical Fluids, 2018, 133: 528-534.

(上接第 254 页)

为 2 类,且主成分分析法筛选出重庆市万州区质量的综合评价最好。本实验测定结果为小根蒜的高效合理利用提供了理论依据。

### 参考文献

- [1] 中国科学院植物志编写委员会. 中国植物志[M]. 北京: 科学出版社, 1980: 265.
- [2] 汪治文, 惠玲. 薤白的本草考证[J]. 中国中药杂志, 1991, 16(7): 389-390.
- [3] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典 2015 版一部[S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2015: 376.
- [4] 程书彪. 薤白中皂苷类化学成分研究[D]. 杭州: 浙江大学, 2013.
- [5] 王彤. 薤白化学成分的研究[D]. 长春: 吉林大学, 2017.
- [6] 徐森. 薤白多糖提取、分离提纯及与 DNA 作用研究[D]. 海口: 海南大学, 2012.
- [7] 彭俊鹏, 乔艳秋, 姚新生. 得自小根蒜及薤中的几种含氮化合物[J]. 中国药物化学杂志, 1995, 5(2): 134-139.
- [8] 高敏, 刘佳, 吴克枫, 等. 野生薤白对小鼠免疫功能的影响[J]. 贵州医药, 2004, 28(10): 932-933.
- [9] 关峰, 张凤兰, 郝丽珍, 等. 薤白总皂苷的抗氧化活性[J].

[6] Garballorubio A, Sotochinchilla J, Moreno A, et al. A novel method for the determination of glycidyl and 3-monochloropropanediol esters in fish oil by gas chromatography tandem mass spectrometry[J]. Talanta, 2017, 165: 267-273.

[7] 梁炼华, 李卓强, 古艳卿. 毛细管气相色谱法同时检测分析鱼油中十八碳三烯酸、二十碳五烯酸和二十二碳六烯酸[J]. 中国卫生检验杂志, 2017(5): 632-634.

[8] 蔡子哲, 汪勇, 王丽丽, 等. 鱼油脂肪酸组成气相色谱法快速分析条件优化研究[J]. 农业机械, 2011, 29: 75-79.

[9] 李小佳, 赵志红, 杨扬, 等. 气相色谱法检测食品中脂肪酸的研究进展[J]. 食品安全质量检测学报, 2016, 7(8): 3114-3120.

[10] Huang P P, Yang R F, Qiu T Q, et al. Solubility of fatty acids in subcritical water[J]. the Journal of Supercritical Fluids, 2013, 81(5): 221-225.

[11] Huang P P, Yang R F, Qiu T Q, et al. Ultrasound-enhanced subcritical water extraction of volatile oil from *Lithospermum erythrorhizon* [J]. Separation Science & Technology, 2010, 45(10): 1433-1439.

[12] Pereira M G, Hamerski F, Andrade E F, et al. Assessment of subcritical propane, ultrasound-assisted and Soxhlet extraction of oil from sweet passion fruit (*Passiflora alata* Curtis) seeds[J]. The Journal of Supercritical Fluids, 2017, 128: 338-348.

[13] Ma Q, Fan X D, Liu X C, et al. Ultrasound-enhanced subcritical water extraction of essential oils from *Kaempferia galangal* L and their comparative antioxidant activities [J]. Separation and Purification Technology, 2015, 150: 73-79.

[14] 陈军, 赵立, 朱红波. 响应面法优化草鱼内脏油脂的工艺及品质评价[J]. 食品与发酵工业, 2013, 39(11): 147-152.

[15] 包宗宏, 云志, 史美仁. 超临界二氧化碳富集提纯鱼油中 EPA 和 DHA 的研究进展 (I)——超临界二氧化碳与鱼油脂肪酸的相平衡研究[J]. 中国油脂, 1996(2): 35-40.

[16] 张喆, 梁鹏, 许艳萍, 等. 酶解法提取大黄鱼内脏鱼油的工艺研究[J]. 食品研究与开发, 2017, 38(1): 112-116.

植物生理学报, 2014, 50(4): 382-388.

[10] 吴波, 曹红, 陈思维, 等. 薤白提取物对兔离体主动脉条的作用[J]. 沈阳药科大学学报, 2000, 17(6): 447-449.

[11] 夏新奎. 薤白多糖的分离纯化及抗氧化活性研究[D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2007.

[12] 张卿, 高尔. 薤白挥发油抗肿瘤作用的实验研究[J]. 肿瘤, 2003, 23(3): 347-349.

[13] 吕爱娟, 吴皓. 中药中核苷类成分的研究进展[J]. 中国中医药信息杂志, 2006, 13(7): 94-97.

[14] 刘红, 陈燕芹, 邓峰, 等. 反相高效液相色谱法同时测定小根蒜中原苷、鸟苷和腺苷[J]. 现代食品科技, 2013, 29(5): 1128-1130.

[15] 刘红, 陈燕芹, 李玉华, 等. 嵩头中腺苷和鸟苷的反相高效液相色谱法同时测定[J]. 时珍国医国药, 2013, 24(6): 1376-1377.

[16] 刘岱琳, 刘爱玲, 曲戈霞, 等. 不同产地、不同采收期的薤白中腺苷含量测定[J]. 沈阳药科大学学报, 2000, 17(3): 184-187.

[17] 潘兴娇, 张杰, 沈昱翔, 等. HPLC 法同时测定云南重楼根茎中 9 种核苷类成分的含量[J]. 中药材, 2016, 39(4): 813-818.