

## 山西浑源仿野生栽培蒙古黄芪的质量研究

胡明勋<sup>1,3</sup>, 郭宝林<sup>1\*</sup>, 周 然<sup>2\*</sup>, 黄文华<sup>1</sup>, 曹秀娟<sup>4</sup>, 侯美利<sup>4</sup>, 陈安家<sup>3</sup>

1. 中国医学科学院北京协和医学院 药用植物研究所, 北京 100193

2. 山西中医学院, 山西 太原 030001

3. 山西医科大学, 山西 太原 030001

4. 山西省浑源县科技局, 山西 浑源 037400

**摘要:** **目的** 通过对山西浑源县仿野生栽培和野生蒙古黄芪中皂苷类和黄酮类成分的比较, 评价仿野生栽培蒙古黄芪的质量。**方法** 采集 12 批野生和 19 批仿野生栽培蒙古黄芪样品, 采用 HPLC-DAD 法测定毛蕊异黄酮苷、芒柄花苷、毛蕊异黄酮、芒柄花素 4 种黄酮成分, UPLC-ELSD 法测定黄芪皂苷 I、II、III、IV 4 种皂苷成分。**结果** 5~6 年生的仿野生栽培的蒙古黄芪中的高质量分数成分毛蕊异黄酮苷、芒柄花苷、黄芪皂苷 I、II、III 的量高于野生黄芪, 相应的黄酮总量、皂苷总量高于野生黄芪, 而 2 种低质量分数成分芒柄花素、黄芪皂苷 IV 的量低于野生黄芪; 通过比较仿野生栽培 1~6 年生黄芪中 8 种成分的量发现, 黄酮类成分随生长年限的增长不断升高, 而皂苷类成分则逐渐降低。**结论** 仿野生栽培的方法可有效地解决优质野生浑源蒙古黄芪资源不足的问题。

**关键词:** 蒙古黄芪; 野生; 仿野生; 黄酮; 皂苷

中图分类号: R286.02 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2012)09-1829-06

## Quality analysis of semi-cultivated *Astragalus membranaceus* var. *mongholicus* from Hunyuan County of Shanxi Province

HU Ming-xun<sup>1,3</sup>, GUO Bao-lin<sup>1</sup>, ZHOU Ran<sup>2</sup>, HUANG Wen-hua<sup>1</sup>, CAO Xiu-juan<sup>4</sup>, HOU Mei-li<sup>4</sup>, CHEN An-jia<sup>3</sup>

1. Institute of Medicinal Plant Development, Chinese Academy of Medical Sciences and Peking Union of Medical College, Beijing 100193, China

2. Shanxi University of Traditional Chinese Medicine, Taiyuan 030001, China

3. Shanxi Medical University, Taiyuan 030001, China

4. Shanxi Hunyuan Technology Bureau, Hunyuan 037400, China

**Abstract:** **Objective** To evaluate the quality of semi-cultivated *Astragalus membranaceus* var. *mongholicus* through comparing the contents of flavonoids and saponins between the semi-cultivated and wild *A. membranaceus* var. *mongholicus* in Hunyuan County, Shanxi Province. **Methods** Twelve wild samples and 19 semi-cultivated samples of *A. membranaceus* var. *mongholicus* were collected. The contents of calycosin glucoside, ononin, calycosin, and formononetin were analyzed by HPLC-DAD, and astragalosides I, II, III, and IV by UPLC-ELSD. **Results** The average contents of calycosin glucoside, ononin, astragalosides I, II, and III in five- or six-year semi-cultivated plants were higher than those in wild plants, so were the total flavonoids and total saponins. However, other two formononetin, and astragaloside IV were less than those in the wild; Based on the comparison of eight ingredients in the one- to six-year semi-cultivated plants, the contents of flavonoids continuously increased with the growth years increasing, while those of saponins were lower along with the growth period. **Conclusion** The semi-cultivated method to solve the resources shortage of high quality wild *A. membranaceus* var. *mongholicus* in Hunyuan is effective and reliable.

**Key words:** *Astragalus membranaceus* (Fisch.) Bge. var. *mongholicus* (Bge.) Hsiao; wild; semi-cultivated; flavonoids; saponins

黄芪为豆科植物蒙古黄芪 *Astragalus membranaceus* (Fisch.) Bge. var. *mongholicus* (Bge.) Hsiao 或膜荚黄芪 *A. membranaceus* (Fisch.) Bge. 的

干燥根<sup>[1]</sup>, 已有 2 000 多年的药用历史。产于山西恒山山脉的浑源、应县、代县、繁峙等地的蒙古黄芪被称为浑源芪或炮台芪, 以“条直长, 绵性大, 粉

收稿日期: 2012-01-15

基金项目: 山西省科技攻关项目 (2561); 国家科技支撑计划项目 (2011BA107B01)

作者简介: 胡明勋 (1986—), 男, 在读硕士研究生, 从事药物分析方面的研究。Tel: (010)57833283 E-mail: hmx1540@163.com

\*通讯作者 郭宝林 Tel: (010)62895049 E-mail: guobaolin010@163.com

周 然 Tel: (0351)2272390 E-mail: zhour58@sohu.com

性和甜味足”为特点<sup>[2]</sup>，享誉国内外。

黄芪的年需求量为 3.5~4 万吨，居于常用中药前列，栽培黄芪占其中的 90% 以上，且主要来自于蒙古黄芪。栽培蒙古黄芪一般育苗 1 年后移栽，移栽后 1 年采收。目前野生的蒙古黄芪已几乎绝迹，但在山西恒山山脉，当地形成一种简单的促进野生黄芪资源再生的抚育模式，即人工采集野生黄芪种子，播撒在野生黄芪的原生环境（当地又叫“芪坡”）中，由于种子和生活环境相同，因此与当地的野生黄芪没有差异，恒山出产的野生黄芪包括了这种抚育模式下的类型，维持了浑源芪的良好品质和相对稳定的产量，但恒山的野生黄芪商品量仍有限。近年来有一种新型的仿野生栽培方式，开垦芪坡，去掉其他草本植物，整地后用当地采集的黄芪种子进行条播，不施肥水，对病虫害和鼠害进行合理的综合防治，种植 5~6 年后统一采收，该模式为仿野生栽培方式，生产的黄芪品质有待评价。从有效成分上看，文献报道<sup>[3-4]</sup>浑源芪中黄芪皂苷 I、II、IV（黄芪甲苷）中的一个或多个成分的量高于其他产地的蒙古黄芪；毛蕊异黄酮苷、芒柄花苷的量高于其他产地，但毛蕊异黄酮、芒柄花素的量较低<sup>[5-7]</sup>。本实验对仿野生栽培 5~6 年的黄芪和同期同地域采收的野生黄芪（大于 6 年）进行皂苷类和黄酮类<sup>[8]</sup>多成分的比较，对仿野生栽培过程中，随栽培年限增长的多成分的量变化进行研究，以期为新的浑源黄芪种植模式的发展提供理论基础。

## 1 仪器和材料

### 1.1 仪器

Waters 高效液相色谱仪（2690 型泵，996 检测器，自动进样器、Empower 色谱工作站）。Waters Acquity UPLC system（二元泵处理器、样品处理器、柱温箱、ELSD 检测器，Empower 色谱工作站）。

### 1.2 材料

乙腈（色谱纯，美国 Fisher 公司）；娃哈哈纯净水；其他试剂均为分析纯。毛蕊异黄酮苷、芒柄花苷对照品购于成都曼斯特公司（批号 2009-A0511，质量分数>98%），毛蕊异黄酮、芒柄花素对照品购于天津马克公司（批号 2010-A0305，质量分数>98%）；黄芪皂苷 I、II、III、IV 对照品购于天津马克公司（批号 2010-A0305，质量分数>98%）。

共采集 31 份山西省浑源县地区的黄芪样品，其中包括野生样品 12 份，仿野生样品 19 份，每份样品采集 10~15 株。全部样品经中国医学科学院药用

植物研究所郭宝林研究员鉴定为蒙古黄芪 *Astragalus membranaceus* (Fisch.) Bge. var. *mongholicus* (Bge.) Hsiao，具体信息见表 1、2。

表 1 仿野生栽培蒙古黄芪样品信息

Table 1 Sample information of semi-cultivated *A. membranaceus* var. *mongholicus*

| 编号   | 生长年限 | 采集时间    | 编号   | 生长年限 | 采集时间    |
|------|------|---------|------|------|---------|
| FY1  | 1 年  | 2009-10 | FY11 | 6 年  | 2009-11 |
| FY2  | 2 年  | 2009-10 | FY12 | 1 年  | 2010-10 |
| FY3  | 3 年  | 2009-10 | FY13 | 2 年  | 2010-10 |
| FY4  | 4 年  | 2009-10 | FY14 | 3 年  | 2010-10 |
| FY5  | 5 年  | 2009-10 | FY15 | 4 年  | 2010-10 |
| FY6  | 6 年  | 2009-10 | FY16 | 5 年  | 2010-10 |
| FY7  | 3 年  | 2009-10 | FY17 | 6 年  | 2010-10 |
| FY8  | 3 年  | 2009-11 | FY18 | 5 年  | 2010-10 |
| FY9  | 4 年  | 2009-10 | FY19 | 6 年  | 2010-10 |
| FY10 | 4 年  | 2009-11 |      |      |         |

表 2 野生蒙古黄芪样品信息

Table 2 Sample information of wild *A. membranaceus* var. *mongholicus*

| 编号  | 采集时间    | 编号   | 采集时间    |
|-----|---------|------|---------|
| WD1 | 2009-10 | WD 7 | 2009-10 |
| WD2 | 2010-10 | WD 8 | 2009-11 |
| WD3 | 2010-10 | WD 9 | 2009-11 |
| WD4 | 2010-10 | WD10 | 2010-10 |
| WD5 | 2010-10 | WD11 | 2009-11 |
| WD6 | 2010-10 | WD12 | 2010-10 |

## 2 方法

### 2.1 黄酮类成分的测定<sup>[9]</sup>

**2.1.1 色谱条件** Venusil ASB 色谱柱（250 mm×4.6 mm，5 μm）；流动相为乙腈（A）-0.3%甲酸溶液（B），体积流量 1.0 mL/min；检测波长 260 nm；柱温 25 ℃；梯度洗脱，0 min，18% A；0~10 min，20% A；10~35 min，24% A；35~52 min，27% A；52~60 min，34% A；60~65 min，40% A，65~70 min，50% A。

**2.1.2 对照品溶液的制备** 分别精密称取毛蕊异黄酮苷、芒柄花苷、毛蕊异黄酮和芒柄花素对照品适量，用甲醇溶解，摇匀，分别制成 222.4、130.0、69.76、50.0 μg/mL 的混合对照品溶液。

**2.1.3 供试品溶液的制备** 取样品在 50 ℃下干燥 3 h，粉碎（过 2 号筛），精密称定 1.0 g，加入 100 mL 甲醇，回流提取 1.5 h，转移，减压浓缩，定容到 10 mL 量瓶中，用 0.45 μm 滤膜滤过，即得供试品溶液。

**2.1.4 标准曲线的绘制** 精密量取对照品溶液 1 mL，定容至 10 mL，制成贮备液 A；精密量取贮备液 A

1 mL, 定容至 5 mL, 制成贮备液 B。精密吸取对照品溶液 5、10  $\mu$ L, 贮备液 A 5、10、20  $\mu$ L, 贮备液 B 5、10、20  $\mu$ L, 注入液相色谱仪, 测定。以进样量 ( $X$ ) 为横坐标, 峰面积积分值 ( $Y$ ) 为纵坐标, 制备标准曲线, 得回归方程及其线性范围, 结果见表 3。

表 3 4 种黄酮类成分的线性回归结果

| Table 3 Linear regression of four kinds of flavonoids |                                           |                 |         |  |
|-------------------------------------------------------|-------------------------------------------|-----------------|---------|--|
| 成分                                                    | 回归方程                                      | 线性范围 / $\mu$ g  | $r$     |  |
| 毛蕊异黄酮苷                                                | $Y=9.53 \times 10^5 X + 1.28 \times 10^4$ | 0.008 9~2.224 4 | 0.999 5 |  |
| 芒柄花素苷                                                 | $Y=9.25 \times 10^5 X + 1.57 \times 10^4$ | 0.005 2~1.300 0 | 0.999 6 |  |
| 毛蕊异黄酮                                                 | $Y=1.23 \times 10^6 X + 4.8 \times 10^3$  | 0.002 8~0.697 6 | 0.999 9 |  |
| 芒柄花素                                                  | $Y=1.87 \times 10^6 X + 1.25 \times 10^3$ | 0.002 0~0.500 0 | 0.999 9 |  |

**2.1.5 精密度试验** 精密吸取同一混合对照品溶液连续进样 6 次, 按 4 种黄酮类成分的峰面积积分值分别计算其 RSD 值。结果, 毛蕊异黄酮苷、芒柄花苷、毛蕊异黄酮、芒柄花素的 RSD 分别为 0.21%、0.59%、0.36%、0.19%, 表明仪器精密度良好。

**2.1.6 重复性试验** 精密称取供试品粉末 1.0 g, 共 6 份, 分别按“2.1.3”项下方法制备供试品溶液, 按“2.1.1”项色谱条件进行测定。结果, 毛蕊异黄酮苷、芒柄花苷、毛蕊异黄酮、芒柄花素的 RSD 分别为 0.52%、0.67%、0.80%、0.93%。

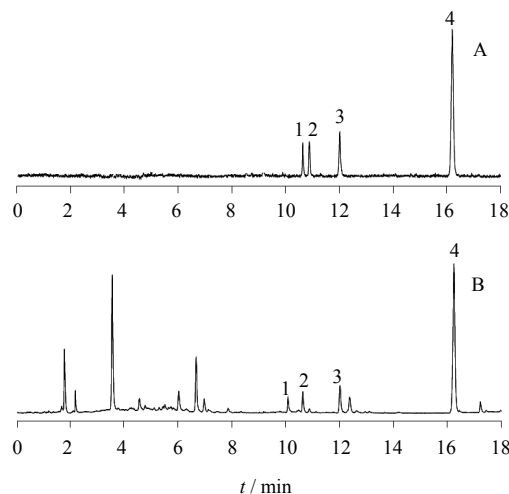
**2.1.7 稳定性试验** 取同一供试品溶液, 分别于 0、2、4、8、10、12 h 精密吸取 20  $\mu$ L 进样检测, 按 4 种黄酮类成分的峰面积分别计算其 RSD 值。结果, 毛蕊异黄酮苷、芒柄花苷、毛蕊异黄酮、芒柄花素的 RSD 分别为 0.13%、0.86%、0.43%、0.24%, 表明供试品溶液在 12 h 内稳定性良好。

**2.1.8 加样回收率试验** 称取已知量的样品 0.5 g, 共 6 份, 于每份样品中分别精密加入适量的对照品, 按“2.1.3”项下方法制备供试品溶液, 按上述方法测定。毛蕊异黄酮苷、芒柄花苷、毛蕊异黄酮、芒柄花素的加样回收率分别为 100.27%、99.87%、100.48%、100.53%, 其 RSD 值为 0.41%、0.60%、1.08%、0.32%。

**2.1.9 样品的测定** 取各批次样品制备供试品溶液, 按“2.1.1”项色谱条件进样 20  $\mu$ L。对照品及样品色谱图见图 1。

## 2.2 皂苷的测定<sup>[9]</sup>

**2.2.1 色谱条件** 色谱柱为 Waters Acquity UPLC (150 mm $\times$ 2.2 mm, 1.7  $\mu$ m), 梯度洗脱: 乙腈 (A) - 0.3%甲酸水 (B) 溶液, 0 min, 20% A; 0~7 min, 33% A; 7~8 min, 41% A; 8~11 min, 44% A; 11~14 min, 45% A; 14~18 min, 65% A; 线性变化。体



1-毛蕊异黄酮苷 2-芒柄花苷 3-毛蕊异黄酮 4-芒柄花素  
1-calycosin glucoside 2-ononin 3-calycosin 4-formononetin

图 1 混合对照品 (A) 和蒙古黄芪药材样品 (B) 黄酮类化合物的 HPLC 色谱图

Fig. 1 HPLC chromatograms of mixed reference substances (A) and *A. membranaceus* var. *mongholicus* (B)

积流量 0.2 mL/min, 柱温 30  $^{\circ}$ C; 蒸发光散射检测器 (ELSD) 参数: 漂移管温度 70  $^{\circ}$ C, 喷雾器温度 42  $^{\circ}$ C, 氮气体积流量 2.07 L/min。

**2.2.2 对照品溶液的制备** 分别精密称取黄芪皂苷 I、II、III、IV 对照品适量, 用甲醇溶解, 摇匀, 分别制成 96.0、20.24、7.64、8.8  $\mu$ g/mL 的混合对照品溶液。

**2.2.3 供试品溶液的制备** 精密称取黄芪粉末 2.0 g 置于烧瓶中, 加入 60 mL 甲醇, 盖上塞子, 冷浸过夜, 水浴回流提取 3 h, 提取液回收并浓缩至干, 残渣加水 5 mL, 微热溶解, 过固相萃取柱<sup>[9]</sup>, 用 5 mL 双蒸水洗涤, 然后用 20%甲醇溶液 5 mL 洗涤, 弃去洗涤液。用 100%甲醇 20 mL 洗脱, 收集洗脱液, 浓缩至干, 残渣加甲醇使其溶解并定容至 5 mL 量瓶中, 摇匀, 滤过, 取续滤液, 过 0.22  $\mu$ m 微孔滤膜, 即得供试品溶液。

**2.2.4 标准曲线的绘制** 精密量取混合对照品溶液 1 mL, 定容至 5 mL 量瓶中, 制成贮备液 A; 精密吸取上述混合对照品溶液 2、3、5  $\mu$ L, 贮备液 A 2、3、5、6  $\mu$ L, 注入液相色谱仪, 测定。以进样量 ( $X$ ) 为横坐标, 峰面积积分值 ( $Y$ ) 为纵坐标, 制备标准曲线, 得回归方程及其线性范围, 结果见表 4。

**2.2.5 精密度试验** 精密吸取同一混合对照品溶液连续进样 6 次, 按 4 种皂苷成分的峰面积积分值分

表4 4种皂苷成分线性回归结果

Table 4 Linear regression of four saponins

| 成分       | 回归方程                                      | 线性范围 / $\mu\text{g}$ | $r$     |
|----------|-------------------------------------------|----------------------|---------|
| 黄芪皂苷 I   | $Y=3.10 \times 10^7 X - 1.01 \times 10^6$ | 0.038 4~0.576 2      | 0.999 9 |
| 黄芪皂苷 II  | $Y=3.27 \times 10^7 X - 2.95 \times 10^5$ | 0.009 7~0.145 0      | 0.999 8 |
| 黄芪皂苷 III | $Y=2.29 \times 10^7 X - 2.83 \times 10^3$ | 0.003 1~0.045 1      | 0.999 9 |
| 黄芪皂苷 IV  | $Y=1.99 \times 10^7 X - 2.97 \times 10^3$ | 0.003 6~0.053 4      | 0.999 8 |

别计算其 RSD 值。结果, 黄芪皂苷 I、II、III、IV 的 RSD 分别为 0.20%、1.14%、0.77%、0.60%, 表明仪器精密度良好。

**2.2.6 重复性试验** 精密称取供试品粉末 2.0 g, 共 5 份, 分别按“2.2.3”项下方法制备供试品溶液, 按“2.2.1”项下色谱条件进行测定。结果, 黄芪皂苷 I、II、III、IV 的 RSD 分别为 0.12%、0.32%、1.17%、0.56%。

**2.2.7 稳定性试验** 取同一供试品溶液, 分别于 0、2、4、8、10、12 h 精密吸取 2  $\mu\text{L}$  进样检测, 按 4 种皂苷类成分的峰面积分别计算其 RSD 值。结果, 黄芪皂苷 I、II、III、IV 的 RSD 分别为 0.56%、0.25%、1.22%、1.15%。

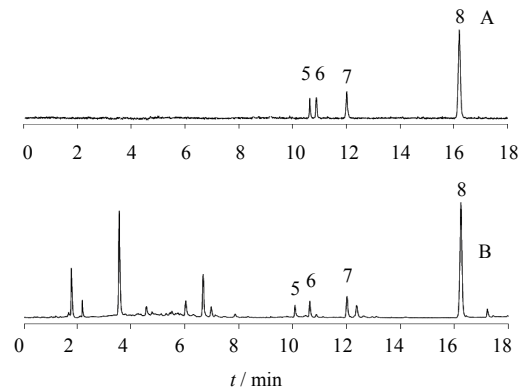
**2.2.8 加样回收率试验** 称已测定的黄芪样品 1.0 g, 共 6 份, 于每份样品中分别精密加入已知量的对照品, 按“2.2.3”项下方法制备供试品溶液, 按上述方法测定。黄芪皂苷 I、II、III、IV 的加样回收率分别为 100.32%、99.51%、100.57%、100.21%, 其 RSD 值

0.44%、0.39%、1.19%、0.65%。

**2.2.9 样品测定** 分别的取各批次样品, 制备供试品溶液, 按“2.2.1”项条件, 进样 20  $\mu\text{L}$ 。对照品及样品色谱图见图 2。

### 3 不同生长年限仿野生栽培黄芪各成分量分析

浑源官儿乡仿野生栽培蒙古黄芪样品的各成分量见表 5, 浑源县境内各地野生蒙古黄芪样品的各成分量见表 6。分别计算 1~6 年生样品各成分的平均量。1 年生样品的毛蕊异黄酮苷、毛蕊异黄酮、总黄酮的



5-黄芪皂苷 IV 6-黄芪皂苷 III 7-黄芪皂苷 II 8-黄芪皂苷 I  
5-astragaloside IV 6-astragaloside III 7-astragaloside II  
8-astragaloside I

图2 对照品 (A) 和蒙古黄芪药材样品 (B) 皂苷类化合物 UPLC 色谱图

Fig. 2 UPLC chromatograms of mixed reference substances (A) and *A. membranaceus* var. *mongholicus* (B)

表5 仿野生栽培蒙古黄芪的各成分量 ( $n=3$ )Table 5 Contents of each ingredient in semi-cultivated *A. membranaceus* var. *mongholicus* ( $n=3$ )

| 编号   | 质量分数 / ( $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ ) |         |         |         |         |         |         |          |         |         |
|------|--------------------------------------------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|----------|---------|---------|
|      | 毛蕊异黄酮                                      | 芒柄花苷    | 毛蕊异黄酮   | 芒柄花素    | 总黄酮     | 黄芪皂苷 I  | 黄芪皂苷 II | 黄芪皂苷 III | 黄芪皂苷    | 总皂苷     |
| FY1  | 0.899 0                                    | 0.316 8 | 0.026 1 | 0.013 0 | 1.254 9 | 0.700 1 | 0.093 7 | 0.020 2  | 0.024 0 | 0.838 0 |
| FY2  | 0.961 9                                    | 0.407 1 | 0.018 9 | 0.007 8 | 1.395 7 | 0.710 2 | 0.082 7 | 0.022 6  | 0.019 2 | 0.834 7 |
| FY3  | 0.981 9                                    | 0.339 3 | 0.024 4 | 0.005 6 | 1.351 2 | 0.633 6 | 0.098 8 | 0.019 1  | 0.022 1 | 0.773 6 |
| FY4  | 1.043 4                                    | 0.522 5 | 0.015 0 | 0.004 9 | 1.585 8 | 0.325 2 | 0.045 2 | 0.008 7  | 0.017 8 | 0.396 9 |
| FY5  | 1.121 1                                    | 0.607 4 | 0.017 2 | 0.005 5 | 1.751 2 | 0.377 5 | 0.052 1 | 0.010 5  | 0.012 3 | 0.452 4 |
| FY6  | 1.444 3                                    | 0.405 7 | 0.018 6 | 0.007 8 | 1.876 4 | 0.245 9 | 0.044 0 | 0.009 9  | 0.012 2 | 0.312 0 |
| FY7  | 1.044 9                                    | 0.452 0 | 0.027 7 | 0.012 1 | 1.536 7 | 0.313 2 | 0.059 8 | 0.013 6  | 0.019 5 | 0.406 1 |
| FY8  | 0.798 4                                    | 0.362 2 | 0.010 7 | 0.003 4 | 1.174 7 | 0.490 5 | 0.066 8 | 0.014 3  | 0.025 7 | 0.597 3 |
| FY9  | 0.940 1                                    | 0.520 7 | 0.016 9 | 0.005 6 | 1.483 3 | 0.389 2 | 0.049 6 | 0.010 6  | 0.018 3 | 0.467 7 |
| FY10 | 0.976 5                                    | 0.497 1 | 0.013 1 | 0.005 2 | 1.491 9 | 0.431 0 | 0.073 4 | 0.015 0  | 0.028 0 | 0.547 4 |
| FY11 | 1.422 9                                    | 0.540 9 | 0.019 9 | 0.004 4 | 1.988 1 | 0.483 4 | 0.083 2 | 0.012 2  | 0.022 1 | 0.600 9 |
| FY12 | 0.387 5                                    | 0.244 4 | 0.006 4 | 0.004 8 | 0.643 1 | 0.800 4 | 0.251 6 | 0.054 6  | 0.035 6 | 1.142 2 |
| FY13 | 0.598 3                                    | 0.397 9 | 0.008 4 | 0.004 6 | 1.009 2 | 0.794 1 | 0.161 3 | 0.045 8  | 0.070 7 | 1.071 9 |
| FY14 | 0.684 0                                    | 0.509 0 | 0.005 6 | 0.004 1 | 1.202 7 | 0.556 0 | 0.121 6 | 0.035 3  | 0.096 6 | 0.809 5 |
| FY15 | 0.957 2                                    | 0.329 5 | 0.012 1 | 0.003 8 | 1.302 6 | 0.704 4 | 0.102 6 | 0.025 5  | 0.071 6 | 0.904 1 |
| FY16 | 1.094 1                                    | 0.344 0 | 0.022 7 | 0.010 1 | 1.470 9 | 0.437 3 | 0.088 4 | 0.020 3  | 0.089 6 | 0.635 6 |
| FY17 | 1.171 5                                    | 0.477 8 | 0.018 8 | 0.004 8 | 1.672 9 | 0.316 3 | 0.065 6 | 0.024 4  | 0.030 1 | 0.436 4 |
| FY18 | 1.037 5                                    | 0.515 2 | 0.013 0 | 0.004 4 | 1.570 1 | 0.624 3 | 0.122 2 | 0.038 1  | 0.044 9 | 0.929 5 |
| FY19 | 0.892 6                                    | 0.383 2 | 0.013 6 | 0.003 5 | 1.292 9 | 0.498 3 | 0.087 3 | 0.013 6  | 0.032 0 | 0.631 2 |
| 平均值  | 1.169 1                                    | 0.467 7 | 0.017 7 | 0.005 8 | 1.660 4 | 0.426 1 | 0.077 5 | 0.018 4  | 0.018 4 | 0.571 1 |

表 6 野生蒙古黄芪各成分的量 ( $n=3$ )

Table 6 Contents of each ingredient in wild *A. membranaceus* var. *mongholicus* ( $n=3$ )

| 编号   | 质量分数 / ( $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ ) |         |         |         |         |         |         |          |         |         |
|------|------------------------------------------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|----------|---------|---------|
|      | 毛蕊异黄酮苷                                   | 芒柄花苷    | 毛蕊异黄酮   | 芒柄花素    | 总黄酮     | 黄芪皂苷 I  | 黄芪皂苷 II | 黄芪皂苷 III | 黄芪皂苷 IV | 总皂苷     |
| WD1  | 0.698 1                                  | 0.243 1 | 0.010 0 | 0.010 9 | 0.962 2 | 0.181 4 | 0.040 6 | 0.008 9  | 0.012 0 | 0.242 9 |
| WD2  | 1.207 3                                  | 0.267 7 | 0.013 3 | 0.003 3 | 1.491 6 | 0.410 4 | 0.067 3 | 0.012 3  | 0.052 6 | 0.542 6 |
| WD3  | 0.715 5                                  | 0.241 6 | 0.008 1 | 0.013 9 | 0.979 1 | 0.260 9 | 0.056 8 | 0.012 2  | 0.037 9 | 0.367 8 |
| WD4  | 1.125 2                                  | 0.241 7 | 0.014 0 | 0.005 1 | 1.386 0 | 0.433 5 | 0.100 2 | 0.014 3  | 0.112 7 | 0.660 7 |
| WD5  | 1.214 7                                  | 0.364 6 | 0.017 8 | 0.004 9 | 1.602 0 | 0.337 6 | 0.095 2 | 0.019 9  | 0.086 8 | 0.539 5 |
| WD6  | 0.865 4                                  | 0.389 1 | 0.042 9 | 0.018 4 | 1.315 8 | 0.386 8 | 0.067 9 | 0.011 7  | 0.025 3 | 0.491 7 |
| WD7  | 0.592 9                                  | 0.301 6 | 0.017 5 | 0.010 2 | 0.922 2 | 0.281 2 | 0.050 1 | 0.009 0  | 0.016 6 | 0.356 9 |
| WD8  | 0.885 7                                  | 0.314 0 | 0.029 1 | 0.015 4 | 1.244 2 | 0.422 9 | 0.056 0 | 0.008 8  | 0.026 1 | 0.513 8 |
| WD9  | 0.426 1                                  | 0.208 9 | 0.010 8 | 0.011 3 | 0.657 1 | 0.187 7 | 0.027 9 | 0.008 3  | 0.010 2 | 0.234 1 |
| WD10 | 0.552 9                                  | 0.219 1 | 0.007 2 | 0.003 3 | 0.782 5 | 0.263 1 | 0.039 6 | 0.014 3  | 0.028 9 | 0.345 9 |
| WD11 | 0.442 8                                  | 0.202 4 | 0.014 5 | 0.014 8 | 0.674 5 | 0.392 8 | 0.050 9 | 0.009 4  | 0.014 3 | 0.467 4 |
| WD12 | 0.447 1                                  | 0.226 5 | 0.028 4 | 0.013 0 | 0.715 0 | 0.788 5 | 0.033 7 | 0.030 2  | 0.058 5 | 0.910 9 |
| 平均值  | 0.764 5                                  | 0.268 4 | 0.017 8 | 0.010 4 | 1.061 0 | 0.362 2 | 0.057 2 | 0.013 3  | 0.040 2 | 0.472 9 |

量最低, 黄芪皂苷 I、II、总皂苷的量最高; 6 年生样品的毛蕊异黄酮苷、总黄酮的量最高, 黄芪皂苷 I、II、总皂苷的量最低。5~6 年生仿野生栽培黄芪药材的黄酮总量及其中的毛蕊异黄酮苷、芒柄花苷、皂苷总量及其中的黄芪皂苷 I、II、III 的平均量均高于野生黄芪; 芒柄花素、黄芪皂苷 IV 的平均量低于野生黄芪; 毛蕊异黄酮和野生黄芪相当。仿野生黄芪以生长年份为横坐标, 各成分平均量的对数值为纵坐标做图, 各成分量变化见图 3。

仿野生栽培的黄芪药材毛蕊异黄酮苷、芒柄花

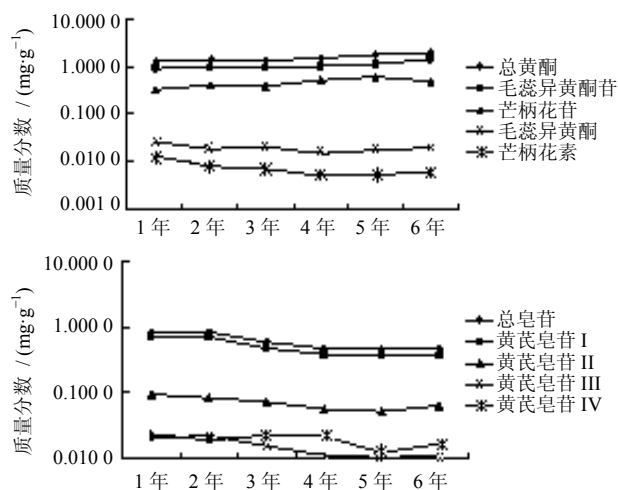


图 3 仿野生黄芪皂苷类成分和黄酮类成分的量随生长年限变化曲线

Fig. 3 Changes of flavonoids and saponins along with growth period in semi-cultivated *A. membranaceus* var. *mongholicus*

苷、黄芪皂苷 I、II、III 的平均质量分数高于野生黄芪, 而毛蕊异黄酮、芒柄花素、黄芪皂苷 IV 平均质量分数低于野生黄芪。

野生黄芪较仿野生栽培黄芪生长年限多样, 生长环境多样化, 这些都影响着化学成分的质量分数<sup>[10]</sup>, 因此黄酮类和皂苷类成分的质量分数呈现比较大的变化幅度。

#### 4 讨论

在确定黄芪黄酮类成分的提取方法时, 考察提取时间 1、1.5、2、2.5、3 h, 在 1.5 h 之后毛蕊异黄酮、芒柄花素的峰面积随回流时间的变长缓慢减小, 到 3 h 时峰面积较 1.5 h 减少了 8%, 毛蕊异黄酮苷、芒柄花苷的量稳定, 说明毛蕊异黄酮和芒柄花素可能对热不够稳定, 与文献报道一致<sup>[11]</sup>。但回流提取效率显著高于超声提取, 故采用回流 1.5 h 作为黄酮类成分的提取方法。

测定皂苷类成分的黄芪供试品溶液制备通常采用正丁醇萃取、D-101 大孔吸附树脂纯化<sup>[12]</sup>, 操作复杂繁琐, 样品中杂质较多, 本实验采用 C<sub>18</sub> 固相萃取柱纯化样品, 得到的样品溶液干扰物少, 操作简单方便, 重现性好。

蒙古黄芪中不同黄酮类成分和皂苷类成分的量具有一定的规律, 黄酮类成分的量毛蕊异黄酮苷 > 芒柄花苷 > 毛蕊异黄酮 > 芒柄花素, 与文献报道一致<sup>[7]</sup>; 皂苷类成分的量黄芪皂苷 I > 黄芪皂苷 II > 黄芪皂苷 IV 和黄芪皂苷 III, 与文献报道一致<sup>[4]</sup>。

从图 3 可以看出, 随着生长年限的增长, 毛蕊

异黄酮苷和芒柄花苷、总黄酮量都逐渐升高,毛蕊异黄酮、芒柄花素没有明显的变化规律;而黄芪皂苷 I、II、总皂苷量则逐渐降低,黄芪皂苷 III、黄芪皂苷 IV 的变化没有明显的规律。总体上看,黄芪中的黄酮成分随生长年限的增长不断升高,而皂苷成分则逐渐降低,和文献报道一致<sup>[13-14]</sup>。

从表 5、6 可以看出,仿野生栽培的黄芪药材的黄酮类和皂苷类量均高于野生黄芪。本实验结果表明通过仿野生栽培的方法不仅解决优质浑源黄芪的资源不足,还可生产出较为优质的药材,值得推广。但是密集种植方式,对于生态环境的影响,以及土地再利用将是未来需要解决的问题。

#### 参考文献

- [1] 中国药典 [S]. 一部. 2010.
- [2] 刘亚明,牛燕珍,冯前进,等. 三种黄芪质量比较及山西道地黄芪的产业化发展分析 [J]. 中国医药学报, 2001, 16(4): 23-24.
- [3] 王宗权,贾继明,宋 剑,等. 不同产地黄芪中黄芪皂苷 I、黄芪皂苷 II 和黄芪皂苷 IV 含量测定 [J]. 药物分析杂志, 2010, 30(7): 1191-1194.
- [4] 覃红萍,鲁 静,林瑞超. HPLC-ELSD 法测定黄芪药材中黄芪皂苷 I、II、III、IV [J]. 中草药, 2009, 40(3): 471-473.
- [5] Ma X Q, Shi Q, Duan J A, *et al.* Chemical analysis of *Radix Astragali* (Huangqi) in China: A comparison with its adulterants and seasonal variations [J]. *J Agric Food Chem*, 2002, 50(17): 4861-4866.
- [6] Wu T, Annie B S W, Gu L H, *et al.* Simultaneous determination of six isoflavonoids in commercial *Radix Astragali* by HPLC-UV [J]. *Fitoterapia*, 2005, 76: 157-165.
- [7] 梁丽娟,赵奎君,屠鹏飞,等. HPLC 法同时测定黄芪中 4 种黄酮类成分的含量 [J]. 中国药房, 2010, 21(15): 1385-1387.
- [8] Liu J, Chen H B, Du X G, *et al.* Quality evaluation of *Radix Astragali* from different sources in China [J]. *J Chin Pharm Sci*, 2009, 18: 14-19.
- [9] Yu Q T, Qi L W, Li P, *et al.* Determination of seventeen main flavonoids and saponins in the medicinal plant Huang-qi (*Radix Astragali*) by HPLC-DAD-ELSD [J]. *Sep Sci*, 2007, 30: 1292-1299.
- [10] 胡明勋,陈安家,郭宝林,等. 影响山西恒山野生蒙古黄芪质量的环境因素研究 [J]. 中草药, 2012, 43(5): 984-989.
- [11] 白焱晶,王智颖,杜新刚,等. 黄芪药材的 HPLC-UV 指纹图谱研究 [J]. 中草药, 2008, 39(7): 1089-1092.
- [12] 夏广萍,刘 鹏,韩英梅. 不同处理方法和不同产地黄芪药材中黄芪甲苷的含量测定 [J]. 中药材, 2008, 31(3): 385-387.
- [13] 胡芳弟,封士兰,赵健雄,等. HPLC 法测定黄芪中黄酮类成分和黄芪甲苷的含量 [J]. 分析测试技术与仪器, 2003, 9(3): 173-177.
- [14] 刘 靖,陈虎彪,白焱晶,等. 不同种植方式下恒山黄芪的质量比较研究 [J]. 中国中药杂志, 2008, 33(5): 570-573.

## 林下山参与园参无机元素的聚类分析和主成分分析

张建逵, 康廷国, 窦德强\*

辽宁中医药大学药学院, 辽宁 大连 116600

**摘要:** 目的 分析林下山参与园参中无机元素特征。方法 采用电感耦合等离子质谱 (ICP-MS) 法测定林下山参与园参药材中无机元素的量, 分别建立林下山参与园参的无机元素标准谱, 运用 SPSS 15.0 统计软件对结果进行统计分析。结果 聚类分析将 17 份样品聚为林下山参与园参两大类, 主成分分析选出 3 个主成分, 得出林下山参与园参的特征元素为 Ca、Na、Fe、Zn、Cu、Mo、V、Sn、Sr、Al、Ba、Ge。元素的分布特征与人参的生态环境、栽培方式及生长年限有关。结论 主成分分析法和聚类分析法是林下山参与园参药材中无机元素分析的有效方法。

**关键词:** 林下山参; 园参; 主成分分析; 聚类分析; 无机元素; 电感耦合等离子质谱 (ICP-MS)

中图分类号: R286.014 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2012)09-1835-06

## Cluster analysis and principal component analysis of inorganic elements in ginseng cultivated in forest and garden

ZHANG Jian-kui, KANG Ting-guo, DOU De-qiang

College of Pharmacy, Liaoning University of Traditional Chinese Medicine, Dalian 116600, China

**Abstract: Objective** To explore the characteristics of inorganic elements in commercial ginseng cultivated in forest and garden.

**Methods** The contents of inorganic elements in commercial ginseng cultivated in forest and garden were determined by ICP-MS. The reference diagram for inorganic elements in commercial ginseng cultivated in forest and garden was established. The statistic analysis was completed by SPSS 15.0 software. **Results** Cluster analysis showed that 17 samples could be clustered reasonably into two groups. Three principal components were extracted. The results showed that Ca, Na, Fe, Zn, Cu, Mo, V, Sn, Sr, Al, Ba, and Ge were the characteristic elements in commercial ginseng cultivated in forest and garden. The element distribution characteristics were related to the ecological environment, cultivation methods, and growth years. **Conclusion** The cluster analysis and principal component analysis are effective methods for inorganic elements analysis.

**Key words:** ginseng cultivated in forest; ginseng cultivated in garden; principal component analysis; cluster analysis; inorganic elements; ICP-MS

人参为我国传统名贵中药材, 具有大补元气、固脉复脱、补脾益肺、生津养血、安神益智的功效<sup>[1-2]</sup>。目前市售的人参商品主要有园参、林下山参、野山参等。其中林下山参是把人参种籽播种在山林野生状态下自然生长而成的山参, 习称“籽海”<sup>[3]</sup>。已有对人参无机元素研究的一些报道<sup>[4-9]</sup>, 但并不全面。近年来研究发现中药的药效与其所含微量元素及各种微量元素量比值有关; 植物体内无机元素的存在对中药临床治疗效果的影响有着密切关系, 除直接参与和调节体内必需的元素外, 常与其药用有

机成分产生协同作用, 增强其疗效<sup>[10]</sup>。

本实验应用电感耦合等离子质谱 (ICP-MS) 法测定林下山参与园参中无机元素的量, 并对其进行差异显著性检验及聚类分析和主成分分析, 为人参的鉴别及质量评价提供依据。

### 1 仪器与材料

#### 1.1 仪器

7500a 型电感耦合等离子体质谱仪 (美国 Agilent 公司), MDS-6 型温压双控微波消解/萃取仪 (上海新仪微波化学有限公司), Milli2Q 型超纯

收稿日期: 2011-11-06

基金项目: 辽宁省科技厅科技创新团队项目 (2008T117); 辽宁省高等学校优秀人才支持计划项目 (2008RC34)

作者简介: 张建逵 (1980—), 男, 讲师, 博士在读, 研究方向为药用植物资源。E-mail: lnzyzjk@sina.com

\*通讯作者 窦德强 E-mail: qoudeqiang2003@yahoo.com.cn

网络出版时间: 2012-07-06 网络出版地址: <http://www.cnki.net/kcms/detail/12.1108.R.20120706.1743.016.html>