

硫磺熏蒸对黄芪中黄酮类和皂苷类成分的影响

翟宇瑶^{1,3}, 胡明勋², 陈安家^{1*}, 郭宝林^{3*}, 黄文华³, 曹秀娟⁴, 侯美利⁴

1. 山西医科大学, 山西 太原 030001

2. 河南平顶山煤矿总医院, 河南 平顶山 467000

3. 中国医学科学院 北京协和医学院 药用植物研究所, 北京 100193

4. 山西省浑源县科技局, 山西 大同 037400

摘要: 目的 测定硫磺熏蒸前后黄芪中黄酮类和皂苷类成分的变化, 确定硫磺熏对黄芪药材质量的影响, 为评价熏硫加工对黄芪质量的影响提供依据。方法 对收集的黄芪进行熏硫加工, 采用 HPLC-DAD 法测定了毛蕊异黄酮苷、芒柄花苷、毛蕊异黄酮、芒柄花素 4 种黄酮成分, UPLC-ELSD 法测定了黄芪皂苷 I、黄芪皂苷 II、黄芪皂苷 III、黄芪甲苷 4 种皂苷成分。结果 硫磺熏过的黄芪药材中毛蕊异黄酮苷、芒柄花苷含量降低, 毛蕊异黄酮、芒柄花素、黄芪皂苷 I、黄芪皂苷 III、黄芪甲苷的含量变化不明显。结论 黄芪熏硫加工后, 黄酮苷成分有所降低, 其余成分变化不明显。

关键词: 黄芪; 硫磺熏蒸; 黄酮; 皂苷; 变化

中图分类号: R286.02 文献标志码: A 文章编号: 1674-5515(2014)05-0489-05

DOI:10.7501/j.issn.1674-5515.2014.05.009

Effects of sulphur fumigation on flavonoids and saponins in *Astragali Radix*

ZHAI Yu-yao^{1,3}, HU Ming-xun², CHEN An-jia¹, GUO Bao-lin³, HUANG Wen-hua³, CAO Xiu-juan⁴, HOU Mei-li⁴

1. Shanxi Medical University, Taiyuan 030001, China

2. Henan Pingdingshan Coal General Hospital, Pingdingshan 467000, China

3. Institute of Medicinal Plant Development, Chinese Academy of Medical Sciences and Peking Union Medical College, Beijing 100093, China

4. Shanxi Hunyuan County Technology Bureau, Datong 037400, China

Abstract: Objective To analyze the contents of flavonoids and saponins in *Astragali Radix* before and after sulfur-fumigation, so as to provide reliable methods for scientifically evaluating and effectively controlling the quality of *Astragali Radix*. **Methods** After sulfur-fumigation, the contents of calycosin glucoside, ononin, calycosin, and formononetin were analyzed by HPLC-DAD, and astragaloside I, astragaloside II, astragaloside III, and astragaloside IV by UPLC-ELSD. **Results** The contents of calycosin glucoside and ononin decreased, while the contents of calycosin, formononetin, astragaloside I, astragaloside III, and astragaloside IV were essentially the same. **Conclusion** After sulfur-fumigation, flavonoid glycoside components are reduced, and the remainder have no obvious change.

Key words: *Astragali Radix*; sulfur-fumigation; flavonoids; saponins; change

硫磺熏蒸是一种传统中药材加工和养护方法, 用于部分中药材的加速干燥及贮藏^[1]。2011年6月, 国家食品药品监督管理局制订了中药材及其饮片二氧化硫残留限量标准, 山药、牛膝、党参等11种传统习用硫磺熏蒸的中药材及其饮片, 二氧化硫

残留量不得超过 400 mg/kg; 其他中药材及其饮片的二氧化硫残留量不得超过 150 mg/kg。除了二氧化硫残留, 硫磺熏蒸产生的二氧化硫, 能与中药材中含酮基、羟基、酯键等成分发生化学反应, 导致药材的成分在熏蒸过程中发生变化, 从而影响药材

收稿日期: 2014-02-08

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(81241137); 山西省留学人员科研资助项目(2010-53)

作者简介: 翟宇瑶(1988—), 女, 山西医科大学硕士研究生, 从事药物分析方面的研究。Tel: (010)57833134 E-mail: zyy529@163.com

*通信作者 陈安家, 男, 教授, 硕士生导师, 从事药物分析学研究。Tel: 15835108120 E-mail: chenanjia888@163.com

郭宝林, 女, 研究员, 博士生导师, 从事药用植物资源学研究。Tel: (010)57833172 E-mail: guobaolin010@163.com

和饮片的质量^[2-4],其中白芍熏蒸后芍药苷降低 90% 以上,导致熏蒸后的白芍饮片中芍药苷不合格^[2]。我国现在黄芪产量最大的区域在甘肃定西和陇西地区,当地的药农和药商储藏前大多用硫磺熏蒸。药材市场的黄芪饮片检测发现二氧化硫残留在 150 mg/kg 左右^[5]。本实验参照当地熏蒸方法对黄芪药材和饮片进行硫磺熏蒸,测定熏蒸前后黄芪药材中黄酮类和皂苷类成分的变化,探讨硫磺熏蒸对黄芪药材质量的影响。

1 仪器和药材

1.1 仪器

Water 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, ELSD 检测器)。

1.2 试剂

毛蕊异黄酮葡萄糖苷、芒柄花苷对照品购于成

都曼斯特公司 (产品批号 2009-A0511, HPLC 法定质量分数 >98%); 毛蕊异黄酮、芒柄花素、黄芪皂苷 I、黄芪皂苷 II、黄芪皂苷 III、黄芪甲苷对照品均购于天津马克生物技术有限公司 (HPLC 法定质量分数 >98%)。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。

1.3 材料

4 份黄芪样品于 2011 年 12 月在甘肃省采集, 见表 1。样品均由中国医学科学院北京协和医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 的根。参照当地熏蒸方法对黄芪药材和饮片进行硫磺熏蒸。取黄芪药材 (饮片) 5 kg, 置于密封有小开口的熏箱中, 放置天然硫磺 50 g, 使其燃烧, 散发烟雾, 连续熏蒸 10 h。1、2 号重复 3 次得到样品 X1-1、X1-2、X1-3、X2-1、X2-2、X2-3, 3、4 号熏蒸 1 次得样品 X3、X4。

表 1 样品采集信息

Table 1 Collected information of samples

样品编号	产地	状态	样品信息	采集时间
1	甘肃陇西首阳镇	饮片 (圆切片)	栽培	2011-12-05
2	甘肃陇西首阳镇	药材 (条状)	栽培	2011-12-05
3	甘肃岷县梅川镇	饮片 (斜切片)	栽培	2011-12-06
4	甘肃陇西蔡子镇	饮片 (斜切片)	栽培	2011-12-07

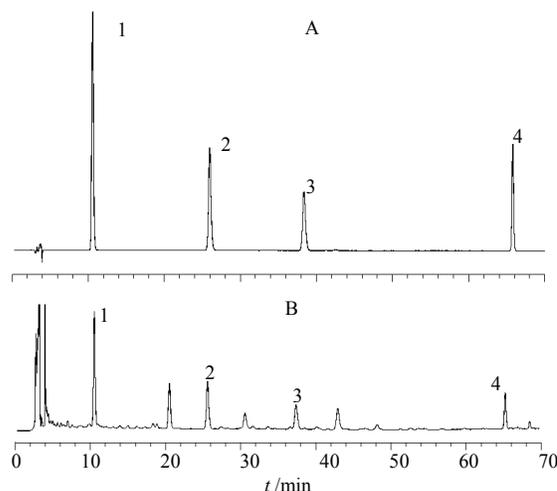
2 方法

2.1 4 种黄酮的测定^[6-7]

2.1.1 色谱条件 Venusil ASB 色谱柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μm) (Agela 公司); 流动相: 乙腈 (A) - 0.3% 甲酸溶液 (B); 梯度洗脱: 0~10 min, 18%A; 10~35 min, 20%A; 35~52 min, 24%A; 52~60 min, 27%A; 60~65 min, 34%A; 65~70 min, 40%A; 70 min, 50%A; 体积流量: 1.0 mL/min; 检测波长: 260 nm; 柱温: 25 °C; 进样量: 20 μL。对照品及样品色谱图见图 1。

2.1.2 对照品溶液的制备 分别精密称取毛蕊异黄酮葡萄糖苷、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 4.448、2.600、1.396、1.000 μg/mL 的混合对照品溶液

2.1.3 供试品溶液的制备 取 1 号黄芪药材, 在 50 °C 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



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 混合黄酮对照品 (A) 和黄芪 (B) 的 HPLC 色谱图
Fig. 1 HPLC chromatograms of flavonoids mixed reference substances (A) and *Astragali Radix* sample (B)

缩，定容到 10 mL 量瓶中，用 0.45 μm 滤膜滤过，即得。

2.1.4 标准曲线的绘制 精密量取混合对照品溶液 1 mL，定容至 10 mL，制成贮备液；精密吸取上述

混合对照品溶液 5、10 μL，贮备液 5、10、20 μL，注入液相色谱仪，测定。以进样质量为横坐标，峰面积积分值为纵坐标，制备标准曲线，得回归方程及其线性范围。结果见表 2。

表 2 4 种黄酮类成分的线性回归结果

Table 2 Linear regression results of four kinds of flavonoids

黄酮成分	回归方程	线性范围/μg	r
毛蕊异黄酮葡萄糖苷	$Y=9.53 \times 10^5 X + 1.28 \times 10^4$	0.008 9~2.224 4	0.999 5
芒柄花素葡萄糖苷	$Y=9.25 \times 10^5 X + 1.57 \times 10^4$	0.005 2~1.300 0	0.999 6
毛蕊异黄酮	$Y=1.23 \times 10^6 X + 4.80 \times 10^3$	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

2.2 4 种皂苷的测定^[6-7]

2.2.1 色谱条件 色谱柱：Waters Acquity UPLC (150 mm×2.1 mm, 1.7 μm)，乙腈 (A) - 0.3% 甲酸溶液 (B)；梯度洗脱：0~4 min, 20%A；4~8 min, 33%A；8~11 min, 41%A；11~12 min, 44%A；12~14 min, 45%A；14~18 min, 65%A；体积流量：0.2 mL/min；柱温：30 ℃；蒸发光散射检测器参数：漂移管温度 70 ℃，喷雾器温度 42 ℃，氮气体积流量 2.07 L/min。对照品及样品色谱图见图 2。

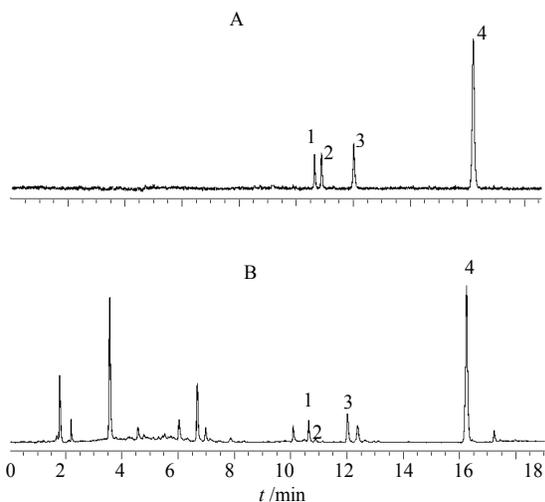
2.2.2 对照品溶液的制备 分别精密称取黄芪皂苷 I、黄芪皂苷 II、黄芪皂苷 III、黄芪甲苷对照品适量，用甲醇溶解，摇匀，分别制成 19.2、4.04、1.52、1.76 μg/mL 的对照品溶液。

2.2.3 供试品溶液的制备 精密称定黄芪粉末 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 (1 000 mg/6 mL，先用 20 mL 甲醇和 5 mL 水预处理)，先用 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 μm 微孔滤膜，即得。

2.2.4 标准曲线的制备 分别吸取 2、3、5、6 μL 对照品溶液，注入液相色谱仪，测定。以进样质量为横坐标，峰面积积分值为纵坐标，制备标准曲线，得回归方程及其线性范围，结果见表 3。

2.3 黄酮和皂苷类成分的测定

采用以上方法，对样品进行测定，采用标准曲线法计算熏蒸前后全部 12 个样品 8 种成分的含量，结果见表 4。可以看出硫磺熏过的黄芪药材中的两种黄酮苷含量有降低，毛蕊异黄酮苷在 3 份饮片中降低程度为 12.6%~15.6%，在 1 份药材中降低 22.1%；芒柄花苷在 3 份饮片中降低程度为 8.8%~25.2%，在 1 份药材中降低 10.8%。毛蕊异黄酮和芒柄花素的含量略有降低或基本不变，降幅最大的是 1 号饮片的芒柄花素的含量，降低了 9.6%；皂苷类



1-黄芪甲苷 2-黄芪皂苷 III 3-黄芪皂苷 II 4-黄芪皂苷 I
1-astragaloside IV 2-astragaloside III 3-astragaloside II 4-astragaloside I

图 2 混合皂苷对照品 (C) 和黄芪药材样品 (D) 的 UPLC 色谱图

Fig. 2 UPLC chromatograms of saponins mixed reference substances (A) and *Astragali Radix* (B)

表 3 4 种皂苷类成分的线性回归结果

Table 3 Linear regression results of four kinds of saponins

成 分	回归方程	线性范围/ μg	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
黄芪甲苷	$Y=1.99 \times 10^7 X - 2.97 \times 10^3$	0.003 6~0.053 4	0.999 8

表 4 黄芪药材硫磺熏蒸前后黄酮和皂苷成分的测定结果

Table 4 Determination of flavonoids and saponins in *Astragalus Radix* before and after processed by sulfur fumigation

编 号	熏蒸 情况	黄酮($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$)				总和	皂苷($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$)				
		毛蕊异黄酮苷	芒柄花苷	毛蕊异黄酮	芒柄花素		黄芪皂苷 I	黄芪皂苷 II	黄芪皂苷 III	黄芪甲苷	总和
1	未熏	0.503 7	0.269 7	0.048 0	0.027 0	0.849 4	0.373 5	0.087 4	0.035 0	0.031 5	0.527 3
X1-1	熏	0.436 4	0.227 3	0.045 5	0.025 9	0.735 1	0.380 7	0.084 8	0.034 8	0.030 7	0.532 1
X1-2	熏	0.412 8	0.213 5	0.044 7	0.023 4	0.694 4	0.359 7	0.088 0	0.033 8	0.029 0	0.510 5
X1-3	熏	0.426 2	0.223 6	0.045 7	0.024 0	0.719 5	0.376 4	0.085 3	0.035 9	0.030 4	0.528 0
	均值	0.425 1	0.221 5	0.045 3	0.024 4	0.716 3	0.372 3	0.086 0	0.034 8	0.030 0	0.523 5
	下降率	15.6%	17.9%	5.6%	9.6%	15.7%	0.3%	1.6%	0.6%	4.8%	0.7%
2	未熏	0.528 1	0.229 0	0.063 2	0.036 4	0.858 7	0.359 5	0.099 7	0.016 1	0.029 3	0.504 5
X2-1	熏	0.420 0	0.202 6	0.059 1	0.036 7	0.718 4	0.349 1	0.088 0	0.015 8	0.028 3	0.481 1
X2-2	熏	0.406 3	0.201 5	0.060 0	0.036 9	0.704 7	0.362 5	0.089 8	0.015 4	0.028 5	0.496 2
X2-3	熏	0.408 4	0.208 7	0.061 7	0.037 4	0.716 2	0.354 9	0.091 5	0.015 0	0.027 8	0.489 2
	均值	0.411 6	0.204 3	0.060 3	0.037 0	0.713 1	0.355 5	0.089 8	0.015 4	0.028 2	0.488 8
	下降率	22.1%	10.8%	4.6%	-1.6%	17.0%	1.1%	9.9%	4.3%	3.8%	3.1%
3	未熏	0.452 6	0.254 2	0.174 3	0.135 4	1.016 5	0.395 7	0.097 1	0.020 4	0.026 1	0.539 3
X3	熏	0.382 5	0.190 2	0.174 1	0.128 5	0.875 3	0.401 2	0.102 3	0.022 0	0.025 4	0.550 9
	下降率	15.5%	25.2%	0.1%	5.1%	13.9%	-1.4%	-5.4%	-7.8%	2.7%	-2.2%
4	未熏	0.616 1	0.263 8	0.034 9	0.013 7	0.928 5	0.183 4	0.057 7	0.011 0	0.017 0	0.269 1
X4	熏	0.538 2	0.240 5	0.034 0	0.013 4	0.828 1	0.189 1	0.057 5	0.010 5	0.014 9	0.272 0
	下降率	12.6%	8.8%	2.6%	2.2%	10.8%	-3.1%	0.3%	4.5%	12.4%	-1.1%

成分中黄芪皂苷 I 的含量基本不变, 黄芪甲苷降低幅度为 2.7%~12.4%, 4 号黄芪饮片样品降低了 12.4%; 黄芪皂苷 II、黄芪皂苷 III 含量变化有高(3 号样品分别升高 5.4%, 7.8%) 有低(2 号样品分别降低 9.9%, 4.3%), 或基本不变。如果药材样品不同测定次数之间以约 5% 误差来考虑的话, 可以认为硫磺熏蒸后黄酮苷有降低, 其余成分变化不明显。

3 讨论

硫磺熏蒸后毛蕊异黄酮苷和芒柄花苷含量有所降低, 可能和其他苷类情况一样^[8-12], 黄酮苷在二氧化硫作用下发生了分解, 也可能是其他原因所致。硫磺熏蒸对多糖含量的影响还待考察。黄芪不仅药

用, 食用量很大, 应该禁止硫磺熏蒸, 同时应当建立和引导使用适合药农和药商储藏的方法, 才能根本上杜绝熏蒸现象, 规范黄芪药材的质量。

参考文献

- [1] 刘静静, 刘 晓, 李松林, 等. 硫磺熏蒸中药材及饮片的研究现状 [J]. 中草药, 2010, 41(8): 1403-1406.
- [2] 刘静静, 刘 晓, 蔡 皓, 等. 对市售白芍饮片芍药苷含量低于中国药典标准的深入探讨 [J]. 药物分析杂志, 2010, 30(10): 1817-1821
- [3] 刘 晓, 蔡 皓, 马晓青, 等. 硫磺熏蒸前后菊花的 HPLC 指纹图谱比较研究 [J]. 中药材, 2012, 35(5): 705-708.

- [4] 李成义, 王延惠, 李 硕, 等. 硫熏对不同等级当归中阿魏酸含量的影响 [J]. 中国现代中药, 2012, 13(12): 36-38.
- [5] 画红顺, 景全成. 硫磺熏蒸中药材二氧化硫残留量的分析 [J]. 中医临床研究, 2011, 3(14): 109-110.
- [6] 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.
- [7] 胡明勋, 郭宝林, 周 然, 等. 山西浑源仿野生栽培蒙古黄芪的质量研究 [J]. 中草药, 2012, 43(9): 1829-1834.
- [8] 段金庵, 赵润怀, 宿树兰, 等. 对硫磺熏蒸药材的基本认识与建议 [J]. 中国现代中药, 2011, 13(4): 3-5.
- [9] 蔡 皓, 张科卫, 刘 晓, 等. 硫磺熏蒸前后白芍 HPLC-UV 特征图谱的比较研究 [J]. 药物分析杂志, 2013, 33(1): 128-132.
- [10] 徐莉莉. 硫磺熏制对抗白菊总黄酮含量的影响 [J]. 浙江中西医结合杂志, 2013, 23(10): 852-854.
- [11] 霍文杰, 李卫民, 高 英. 干燥方法对金银花中绿原酸、木犀草苷及总黄酮含量的影响 [J]. 广州中医药大学学报, 2013, 30(5): 737-741.
- [12] 李成义, 祝永甲, 王明伟, 等. 熏硫对商品当归不同药用部位阿魏酸含量的影响 [J]. 甘肃中医学院学报, 2013, 30(3): 20-23.