

黄芪花营养成分分析与资源价值评价

李 园¹, 常相伟¹, 朱邵晴¹, 朱振华¹, 钱大玮¹, 朱 悦¹, 王汉卿², 郭 盛^{1*}, 段金彪^{1*}

1. 南京中医药大学 江苏省中药资源产业化过程协同创新中心, 国家中医药管理局中药资源循环利用重点研究室, 中药资源产业化与方剂创新药物国家地方联合工程研究中心, 江苏 南京 210023

2. 宁夏医科大学药学院, 宁夏 银川 750021

摘要: **目的** 明晰黄芪花中资源性化学成分组成, 探讨其资源潜在利用价值。**方法** 采用分光光度法对黄芪花中总多糖、水溶性蛋白进行分析评价; 采用 HPLC-PDA/ELSD 法对黄芪花中单糖寡糖组成及含量进行分析; 采用 GC-MS 法对黄芪花中挥发性成分及脂肪酸类成分和含量进行分析; 采用 UPLC-TQ-MS 法对黄芪花中核苷类及氨基酸类组成及含量进行分析。**结果** 黄芪花中含有多糖类 (47.02 mg/g)、水溶性蛋白质 (470.66 mg/g)、果糖 (45.46 mg/g)、葡萄糖 (8.71 mg/g)、蔗糖 (1.05 mg/g) 营养物质; 检测出黄芪花中 32 种挥发性成分, 其中以含氧衍生物为其主要组成成分; 6 种核苷类和 15 种游离氨基酸类资源性化学成分, 总量分别达 2.77 和 6.52 mg/g。在黄芪花中还检出 8 种脂肪酸类成分, 其中肉豆蔻酸、棕榈酸和油酸为其主要组成成分。**结论** 阐明了黄芪花中各类型营养成分的组成及含量, 为黄芪花的系统利用与精细化开发提供了科学依据。

关键词: 黄芪花; 营养类成分; 资源化价值; HPLC-PDA/ELSD; 多糖; 水溶性蛋白质; 果糖; 葡萄糖; 蔗糖

中图分类号: R286.2 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2018)18-4408-09

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2018.18.028

Nutritional component analysis and resource value evaluation of flowers of *Astragalus membranaceus* var. *mongholicus*

LI Yuan¹, CHANG Xiang-wei¹, ZHU Shao-qing¹, ZHU Zhen-hua¹, QIAN Da-wei¹, ZHU Yue¹,
WANG Han-qing², GUO Sheng¹, DUAN Jin-ao¹

1. Jiangsu Collaborative Innovation Center of Chinese Medicinal Resources Industrialization, State Administration of Traditional Chinese Medicine Key Laboratory of Chinese Medicinal Resources Recycling Utilization, National and Local Collaborative Engineering Center of Chinese Medicinal Resources Industrialization and Formulae Innovative Medicine, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210023, China

2. School of Pharmacy, Ningxia Medical University, Yinchuan 750021, China

Abstract: Objective To analyze and evaluate the chemical components from flowers of *Astragalus membranaceus* var. *mongholicus*, and to investigate the potential value of the medicinal plant resources. **Methods** UV-Vis spectrophotometry was used to determine the total contents of polysaccharides and water-soluble protein. HPLC-PDA/ELSD method was used to determine monosaccharides and oligosaccharides and GC-MS method was used to determine volatile components and the fatty acids in the flowers of *A. membranaceus* var. *mongholicus*. UPLC-TQ-MS method was used to analyze the nucleosides and amino acids. **Results** The flowers of *A. membranaceus* var. *mongholicus* contain abundant polysaccharides (47.02 mg/g), water-soluble protein (470.66 mg/g), fructose (45.46 mg/g), glucose (8.71 mg/g), and sucrose (1.05 mg/g). There were 32 kinds of volatile components detected in the flowers of *A. membranaceus* var. *mongholicus*, in which oxy-derivatives were the main components. In addition, six nucleosides and 15 amino acids were detected in the flowers of *A. membranaceus* var. *mongholicus*, and their total contents were 2.77 mg/g and 6.52 mg/g, respectively. Eight fatty acids in the flowers of *A. membranaceus* var. *mongholicus* were also detected, in which myristic acid, palmitic acid, and oleic acid were the main components. **Conclusion** This study investigated the composition and content of various nutritional components of the flower of *A. membranaceus* var. *mongholicus*, which provides a scientific basis for its utilization and development.

Key words: flowers of *Astragalus membranaceus* (Fisch.) Bge. var. *mongholicus* (Bge.) Hsiao; nutritional ingredients; resource value; HPLC-PDA/ELSD; polysaccharide; water-soluble protein; fructose; glucose; sucrose

收稿日期: 2018-03-26

基金项目: 宁夏重点研发计划项目 (2017BY079, 2018ZWYQ0077); 国家中医药行业科研专项 (201407002)

作者简介: 李 园, 在读硕士研究生, 主要从事中药化学与分析研究。E-mail: 380106891@qq.com

*通信作者 郭 盛, 副研究员, 研究方向为中药资源化学与资源循环利用。Tel: (025)85811916 E-mail: guosheng@njucm.edu.cn
段金彪, 教授, 研究方向为中药资源化学与资源循环利用。Tel: (025)85811291 E-mail: dja@njucm.edu.cn

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, 具有补气升阳、固表止汗、利水消肿之功效。在黄芪植物资源利用过程中, 主要以采挖其根用于中医临床或作为原料药材用于中药制药工业或功能性食品加工, 其他部位因缺乏有效利用途径而废弃或仅作为饲草低值利用, 造成资源的巨大浪费。目前对黄芪地上部分的研究主要集中在其茎叶部位^[1-3], 而对其花部位的研究则较少, 其资源价值尚未充分暴露。据此, 本研究采用 UPLC-MS、GC-MS 等多种分析方法分别对黄芪花中的糖类、蛋白质、挥发性成分、氨基酸类、核苷类、脂肪酸等营养成分进行分析评价, 以期阐明各类型营养成分在黄芪花中的组成及含量, 为黄芪花资源的有效利用提供支撑, 为黄芪植物资源循环利用产业链构建提供数据支持。

1 材料

PerkinElmer Clarus 680 气相色谱仪串联 AxIONiQT 质谱检测器 (美国 PerkinElmer 公司); NIST 标准质谱图库 (2011 版, 美国国家标准技术研究院); WILEY 标准质谱图库 (美国 John Wiley & Sons 公司); Waters ACQUITY UPLC 系统、Xevo TQ 检测器、Mass LynxTM 质谱工作站软件 (Waters 公司); UV-2000 紫外可见分光光度计 (菲勒仪器); Milli-Q Integral 5 超纯水系统 (默克密理博公司); Enspive 多功能酶标仪 (Perkin Elmer 公司) 等。

标准品葡萄糖醛酸 (批号 B1611057)、葡萄糖 (批号 E1407051)、果糖 (批号 E1829015)、蔗糖 (批号 K1702083) 购于阿拉丁试剂公司; 对照品尿苷 (批号 110887-200202) 购于中国食品药品检定研究院; 次黄嘌呤 (批号 101K0022)、胞嘧啶 (批号 101144695)、鸟苷 (批号 119K15841V)、尿苷 (批号 1001290893)、胸苷 (批号 1001182663)、胞苷 (批号 101056876)、 γ -氨基丁酸 (批号 129051252107081)、谷氨酰胺 (批号 091M0023V)、天冬酰胺 (批号 A-8381) 均购于 Sigma 公司; 甲硫氨酸 (批号 110612)、酪氨酸 (批号 110926)、亮氨酸 (批号 110728)、苯丙氨酸 (批号 150826)、异白氨酸 (批号 140616)、色氨酸 (批号 150826)、脯氨酸 (批号 140616)、缬氨酸 (批号 140616)、谷氨酸 (批号 110820)、赖氨酸 (批号 110726)、精氨酸 (批号 110626)、组氨酸 (批号 150826) 均购于中国惠

兴生化试剂有限公司; 以上标准品质量分数均大于 98%。37 种脂肪酸甲酯混合对照品溶液购自 ANPEL Scientific Instrument (上海) 有限公司。以上化学对照品质量分数经 HPLC 检测均大于 98%。

BCA 蛋白浓度测定试剂盒 (Solarbio 公司, 批号 20170327); 甲酸 (Merck, 德国) 和乙腈 (Merck, 美国) 均为色谱纯, 实验用水为自制超纯水; 其他化学试剂均为分析纯, 购自上海国药化学试剂公司。

黄芪花样品 1、2、3 均为 2016 年 7 月采自山西省浑源县, 经南京中医药大学段金廛教授鉴定来源于豆科植物蒙古黄芪 *Astragalus membranaceus* (Fisch.) Bge. var. *mongholicus* (Bge.) Hsiao 的花。

2 方法与结果

2.1 多糖类分析

2.1.1 供试品溶液制备 参考文献方法^[4], 分别取黄芪花粉末 (40 目) 3 份, 每份 1.0 g, 精密称定, 置于 100 mL 锥形瓶中, 分别加入 40 mL 的 80% 乙醇, 静置 2 h 后, 超声 (40 kHz) 提取 30 min, 90 °C 水浴回流 1 h, 趁热滤过, 滤渣用热 80% 乙醇 (80 °C) 洗涤 2~3 次, 滤渣连同滤纸置于锥形瓶中, 精密加入超纯水 40 mL, 称定质量, 室温超声 30 min, 水浴回流 1 h, 冷却后补足减失质量, 摇匀, 13 000 r/min 离心 10 min, 取上清液, 冷藏备用。

2.1.2 中性多糖分析及结果 参考文献方法^[5], 分别精密量取质量浓度为 225.1 $\mu\text{g/mL}$ 的葡萄糖标准品溶液 0、0.1、0.2、0.4、0.6、0.8、1.0 mL 置于 15 mL 具塞试管中, 加超纯水补足至 1 mL。分别加入 5% 的苯酚溶液 2 mL 与浓硫酸 7.0 mL 后摇匀, 放入沸水浴中 20 min。采用紫外分光光度法在 490 nm 处测定吸光度 (A) 值。以 A 值为纵坐标 (Y), 标准品质量浓度为横坐标 (X), 绘制标准曲线, 最终得到标准曲线方程 $Y=2.572\ 2\ X+0.069\ 5$, $r^2=0.991\ 7$, 线性范围为 22.51~225.1 $\mu\text{g/mL}$ 。

分别精密移取 “2.1.1” 项下制备的黄芪花供试溶液, 用超纯水稀释得 10 倍样品稀释溶液。然后分别取 3 份样品稀释液各 1 mL 于试管中, 按中性多糖标准曲线测定方法, 测定样品溶液的 A 值, 并采用标准曲线法计算样品中性多糖含量。结果表明黄芪花中中性多糖的质量分数为 $(23.24\pm 1.98)\ \text{mg/g}$ (表 1)。

2.1.3 酸性多糖分析及结果 分别精密量取质量浓度为 212.3 $\mu\text{g/mL}$ 的葡萄糖醛酸对照品溶液 0.1、0.2、0.4、0.6、0.8、1.0 mL 置于 15 mL 具塞试管中,

表 1 蒙古黄芪花中糖类、水溶性蛋白成分分析结果 ($\bar{x} \pm s, n=3$)Table 1 Analysis results of carbohydrate components, water-soluble protein in flowers of *A. membranaceus* var. *mongholicus* ($\bar{x} \pm s, n=3$)

样品	中性多糖/(mg·g ⁻¹)	酸性多糖/(mg·g ⁻¹)	果糖/(mg·g ⁻¹)	葡萄糖/(mg·g ⁻¹)	蔗糖/(mg·g ⁻¹)	水溶性蛋白/(mg·g ⁻¹)
1	21.82±1.07	23.54±0.22	45.48±0.01	8.59±0.10	1.00±0.00	441.07±12.18
2	22.77±3.31	24.08±0.25	44.59±0.20	8.81±0.20	1.08±0.02	484.96±21.56
3	22.61±1.16	23.43±0.92	46.31±0.07	8.73±0.01	1.07±0.01	485.93±27.19
均值	23.24±1.98	23.68±0.57	45.46±0.03	8.71±0.03	1.05±0.14	470.66±28.82

加超纯水补足至 1 mL。分别加入 12.50 mmol/L 的四硼酸钠硫酸溶液 5 mL, 摇匀, 放入沸水浴中加热 10 min。再分别加入 0.125% 的吡啶 0.2 mL, 摇匀, 放入沸水浴中加热 15 min。采用紫外分光光度法在 512 nm 处测定 A 值。以 A 值为纵坐标 (Y), 标准品质量浓度为横坐标 (X), 绘制标准曲线, 最终得到标准曲线方程 $Y=7.640\ 8\ X+0.115\ 4$, $r^2=0.999\ 2$, 线性范围为 21.23~212.3 $\mu\text{g/mL}$ 。

分别精密移取“2.1.1”项下制备的黄芪花样品溶液用超纯水稀释得 10 倍样品稀释溶液。然后分别取 3 份样品稀释液各 1 mL 于试管中, 按酸性多糖标准曲线测定方法, 测定样品溶液的 A 值, 并采用标准曲线法计算样品酸性多糖含量。结果表明黄芪花中酸性多糖的质量分数为 (23.68±0.57) mg/g (表 1)。

2.2 水溶性蛋白分析

2.2.1 供试品溶液制备 分别取黄芪花粉末 (40 目) 3 份, 每份 0.5 g, 精密称定, 置于 250 mL 锥形瓶中, 分别精密加入 1% NaOH 溶液 100 mL, 80 °C 恒温水浴浸提 1 h, 冷却后, 提取液 13 000 r/min 离心 10 min, 取上清液 2 mL, 即得供试品溶液, 4 °C 贮藏备用。

2.2.2 样品分析及结果 根据 BCA 蛋白测量试剂盒说明书配制“工作液”用来稀释对照品溶液。分别精密量取质量浓度为 0.5 mg/mL 的蛋白对照品溶液 0、2、4、6、8、12、16、20 μL 于 96 孔板的蛋白对照品孔中, 加 PBS 补足至 20 μL 。各孔加入 200 μL BCA 工作液, 将 96 孔板置于 37 °C 温箱孵育 15 min, 用酶标仪测定其在 562 nm 处的 A 值。以 A 值为纵坐标 (Y), 对照品质量浓度为横坐标 (X), 绘制标准曲线, 得到标准曲线方程 $Y=0.628\ 1\ X+0.118\ 8$, $r^2=0.991\ 4$, 线性范围为 0.05~0.50 mg/mL。

分别精密移取“2.2.1”项下制备的黄芪花供试品溶液, 用 PBS 稀释得 10 倍样品稀释溶液。分别

取 3 份样品稀释液 20 μL 加于 96 孔板的样品孔中, 按蛋白标准曲线测定方法, 测定样品溶液的 A 值, 并采用标准曲线法计算样品中总蛋白的含量。结果表明黄芪花中蛋白质的质量分数为 (470.66±28.82) mg/g (表 1)。

2.3 游离单糖与寡糖成分分析

2.3.1 供试品溶液制备 分别取黄芪花粉末 (40 目) 3 份, 每份 1.0 g, 精密称定, 置于 50 mL 锥形瓶中, 精密加入超纯水 20 mL, 称定质量, 静置 2 h 后, 25 °C 超声 (100 Hz) 提取 60 min, 加水补足损失质量, 摇匀, 13 000 r/min 离心 10 min, 取上清液过 0.45 μm 滤膜, 得供试品溶液, 进行 HPLC 分析。

2.3.2 HPLC 检测条件 色谱柱为 GRACE Prevail Carbohydrate ES 色谱柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相为水 (A)-乙腈 (B); 梯度洗脱程序: 0~7 min, 75% B; 7~17 min, 75%~55% B; 17~19 min, 55%~50% B; 19~21 min, 50%~75% B; 21~25 min, 75% B; 体积流量 1.0 mL/min; 柱温 25 °C; 进样体积 15 μL 。ELSD 检测器条件: 漂移管温度 50 °C, 载气流量 2.5 L/min。

2.3.3 样品分析及结果 用纯水配制质量浓度分别为 4.108、4.427、2.148 mg/mL 的果糖、葡萄糖、蔗糖混合标准品溶液。将上述制备的混合标准品溶液稀释成系列质量浓度混合标准品溶液, 用于线性关系考察。

分别精密移取“2.3.1”项下制备的黄芪花供试品溶液, 用超纯水稀释得 10 倍稀释液, 过 0.22 μm 滤膜, 得稀释后的供试品溶液。按“2.3.2”项条件下测定样品溶液浓度, 结果表明黄芪花中果糖的质量分数为 (45.46±0.03) mg/g、葡萄糖的质量分数为 (8.71±0.03) mg/g、蔗糖的质量分数为 (1.05±0.14) mg/g (表 1)。

2.4 挥发性成分的分析

2.4.1 供试品溶液的制备 分别取黄芪花粉末 (40

目) 3 份, 每份 1.0 g, 精密称定, 置于 50 mL 锥形瓶中, 精密加入 10 mL 正己烷, 称定质量, 静置过夜, 室温超声 (100 Hz) 提取 30 min, 称定质量, 用正己烷补足减失质量, 摇匀, 提取液 13 000 r/min 离心 10 min, 取上清液 2 mL, 过 0.22 μm 有机滤膜, 即得样品溶液, 4 $^{\circ}\text{C}$ 贮藏备用。

2.4.2 GC-MS 气相检测条件 Agilent HP-5MS 石英毛细管色谱柱 (30 m $\times$ 0.25 mm, 0.25 μm)。载气氦气; 分流比 20:1; 体积流量 1 mL/min; 进样口温度 200 $^{\circ}\text{C}$; 检测口温度 250 $^{\circ}\text{C}$; 进样量 1 μL 。程序升温: 初始温度 50 $^{\circ}\text{C}$, 保持 4 min; 以 10 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 升至 140 $^{\circ}\text{C}$, 保持 4 min; 以 2 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 升至 170 $^{\circ}\text{C}$, 保持 2 min。

质谱条件: 电子轰击离子源 (EI) 离子源温度 230 $^{\circ}\text{C}$, 电子能量 70 eV, 气相色谱-质谱接口温度 230 $^{\circ}\text{C}$, 扫描范围 m/z 40~400。

2.4.3 样品分析及结果 取“2.4.1”项下制备的供

试品溶液, 分别进样 1 μL , 按“2.4.2”项下条件进行 GC-MS 分析, 得到黄芪花的 GC-MS 总离子流 (TIC) 色谱图见图 1。所得谱图数据经 NIST MS Search 2011, Wiley MS Search 09•2782•数据库自动检索, 与标准图谱对照、人工谱图解析, 并与文献比对, 对基峰、质荷比和相对丰度等进行比较、分析, 分别对色谱峰加以确认, 从而鉴定黄芪花中挥发性物质的化学组成。采用峰面积归一化法计算其相对含量, 结果见表 2。结果显示, 从黄芪花中检测到 32 种挥发性成分。黄芪花中含有的挥发性化学成分主要为 19.77% 的二十九烷、11.89% 的 1-壬醇、8.50% 的 3,5,5-三甲基-2-环己烯-1-醇、7.43% 的 1,30-三十烷二醇、6.32% 的 2-(3-丁炔氧基) 四氢-2H-吡喃等, 由此可见, 饱和烷烃类和含氧衍生物为黄芪花中含有的主要挥发性组分, 此外, 在黄芪花中尚含有植酮、 γ -谷甾醇、胆甾酮、叶绿醇、麦角甾醇、植醋酸、松香酸等。

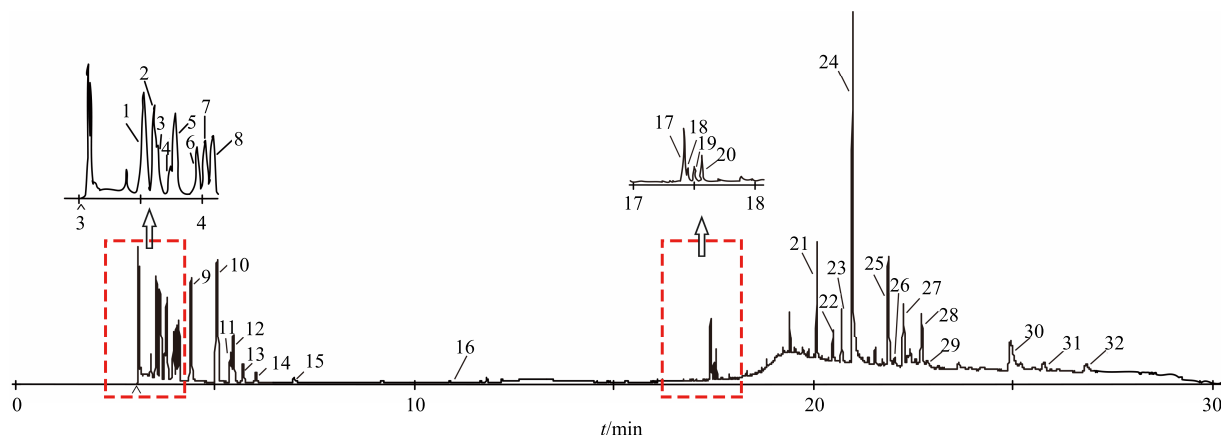


图 1 黄芪花挥发性成分 GC-MS 总离子流图

Fig. 1 Total ion chromatograms of volatile components in flowers of *A. membranaceus* var. *mongholicus* by GC-MS

2.5 核苷类及氨基酸类化学成分分析

2.5.1 对照品溶液制备 精密称取 15 种氨基酸对照品适量, 加超纯水定容, 配制成含亮氨酸 122.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、苯丙氨酸 247.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、异亮氨酸 167.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、色氨酸 14.00 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、 γ -氨基丁酸 175.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、甲硫氨酸 140.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、脯氨酸 150.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、缬氨酸 471.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、酪氨酸 151.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、谷氨酸 269.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、赖氨酸 254.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、谷氨酰胺 268.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、天冬酰胺 311.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、精氨酸 171.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、组氨酸 156.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的混合对照品贮备液。

精密称取 6 种核苷对照品适量, 置于 50 mL 量瓶中, 加超纯水定容, 配制成含胸苷 69.60

$\mu\text{g}/\text{mL}$ 、尿苷 63.60 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、次黄嘌呤 57.60 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、胞嘧啶 80.40 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、胞苷 64.80 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、鸟苷 71.60 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的混合对照品贮备液。

2.5.2 供试品溶液制备 分别取黄芪花粉末 (40 目) 3 份, 每份 1.0 g, 精密称定, 置于 100 mL 锥形瓶中, 精密加入 50 mL 超纯水, 称定质量, 静置 30 min 后, 室温超声提取 30 min, 加超纯水补足减失质量, 摇匀, 13 000 r/min 离心 10 min, 取上清液适量, 用 0.22 μm 微孔滤膜滤过, 冷藏备用。

2.5.3 色谱条件 参考文献方法^[6], 采用 ACQUITY UPLC BEH Amide 色谱柱 (100 mm $\times$ 2.1 mm, 1.7 μm), 体积流量 0.4 mL/min, 进样量

表 2 黄芪花中挥发性化学成分分析

Table 2 Analysis results of volatile constituents in flowers of *A. membranaceus* var. *mongholicus*

峰号	t_R /min	化学名称	分子式	相对质量分数/%
1	3.552 8	2-(3-丁炔氧基) 四氢-2H-吡喃	$C_9H_{14}O_2$	6.32
2	3.635 7	2,4-二甲基己烷	C_8H_{18}	2.53
3	3.666 8	2,3-二甲基戊烷	C_7H_{16}	2.18
4	3.763 3	1,1-二甲基环戊烷	C_7H_{14}	1.07
5	3.811 8	3-甲基己烷	C_7H_{16}	2.56
6	3.980 9	二甲基环戊烷	C_7H_{14}	2.53
7	4.046 4	环庚烷	C_7H_{14}	2.47
8	4.112 3	反式-1,2-二甲基环戊烷	C_7H_{14}	2.78
9	4.422 9	3,5,5-三甲基-2-环己烯-1-醇	$C_9H_{16}O$	8.50
10	5.067 6	1-壬醇	$C_9H_{20}O$	11.89
11	5.405 9	2,5-二甲基己烷	C_8H_{18}	1.13
12	5.474 7	2,3-二甲基戊醇	$C_7H_{16}O$	2.42
13	5.716 4	1,2,4-三甲基环戊烷	C_8H_{16}	1.34
14	6.040 4	1,2,3-三甲基环戊烷	C_8H_{16}	0.69
15	6.992 0	(3-octylundecyl) benzene	$C_{25}H_{44}$	0.43
16	11.814 2	邻二甲苯	C_8H_{10}	0.28
17	17.426 5	新植二烯	$C_{20}H_{38}$	1.24
18	17.457 5	植酮	$C_{18}H_{36}O$	0.22
19	17.512 5	叶绿醇	$C_{20}H_{40}O$	0.46
20	17.578 3	植醋酸	$C_{22}H_{42}O_2$	0.73
21	20.097 8	二十七烷	$C_{27}H_{56}$	3.92
22	20.504 8	3-乙基-5-(2-乙基丁基)-十八烷	$C_{26}H_{54}$	1.42
23	20.715 0	9-十六碳烯酸, (Z,Z)-9-十八碳烯基酯	$C_{34}H_{64}O_2$	2.17
24	21.001 2	二十九烷	$C_{29}H_{60}$	19.77
25	21.890 2	1,30-三十烷二醇	$C_{30}H_{62}O_2$	7.43
26	22.055 7	麦角甾醇	$C_{28}H_{44}O$	0.50
27	22.272 8	正三十二烷	$C_{32}H_{66}$	4.17
28	22.727 7	3,5-二烯豆甾烷	$C_{29}H_{48}$	3.45
29	22.868 7	松香酸	$C_{20}H_{30}O_2$	0.42
30	24.961 0	γ -谷甾醇	$C_{29}H_{50}O$	3.47
31	25.787 8	methyl-3 α -acetoxy-7-oxo-5 β -cholan-24-oate	$C_{27}H_{42}O_5$	0.92
32	26.856 2	胆甾酮	$C_{27}H_{44}O$	0.57

1 μ L, 柱温 35 $^{\circ}$ C。流动相为含 0.15%甲酸和 10 mmol/L 甲酸铵的水溶液(A)及含 0.05%甲酸和 2 mmol/L 甲酸铵的乙腈溶液(B), 梯度洗脱条件: 0~3 min, 10% A; 3~9 min, 10%~18% A; 9~15 min, 18%~20% A; 15~16 min, 20%~46% A; 16~18 min, 46% A; 18~19 min, 46%~10% A; 19~20 min, 10% A。典型样品色谱图见图 2。

2.5.4 质谱条件 参考文献方法^[6], 采用电喷雾离子源(ESI)正离子扫描模式, 多反应监测(MRM)检测。毛细管电压 3.0 kV, 离子源温度 150 $^{\circ}$ C, 脱溶剂气流量和温度分别为 1 000 L/h、550 $^{\circ}$ C, 碰撞

气和锥孔气流量分别为 0.15 mL/min、50 L/h。所测定氨基酸与核苷类物质的碰撞能量和锥孔电压按照文献中参数设置^[7]。

2.5.5 样品分析及结果 取样品溶液, 按照“2.5.3”和“2.5.4”项下条件依次进样分析, 记录峰面积, 并按外标一点法计算样品中核苷类及氨基酸类成分含量, 结果见表 3。由表 3 可知, 在黄芪花中共检出 6 种核苷类化学成分, 总量为 (2.62 ± 0.06) mg/g, 核苷中以尿苷含量相对较高, 可达 (1.83 ± 0.06) mg/g。样品中共检测出 14 种组成蛋白质的游离氨基酸类化学成分, 另检测出 1 种非

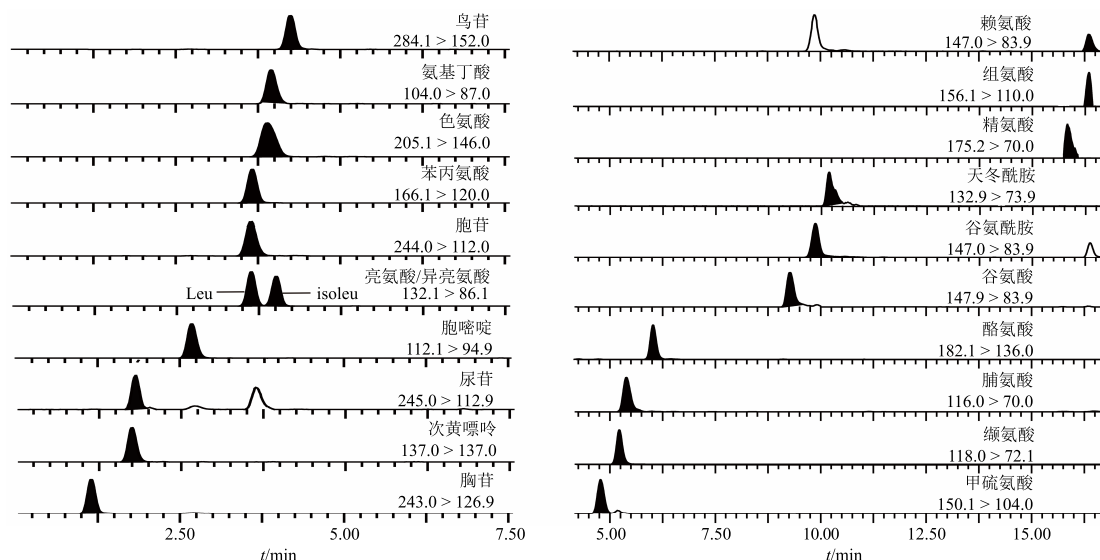


图 2 蒙古黄芪花样品中核苷类和氨基酸类成分 UPLC-TQ-MS 色谱图

Fig. 2 UPLC-TQ-MS of nucleosides and amino acids in flowers of *A. membranaceus* var. *mongholicus*

表 3 黄芪花中核苷和氨基酸类资源性化学成分含量测定结果 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Table 3 Analysis results of nucleosides and amino acids in flowers of *A. membranaceus* var. *mongholicus* ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

样品	质量分数/(mg·g ⁻¹)					
	胸苷	尿苷	次黄嘌呤	胞嘧啶	胞苷	亮氨酸
1	0.121±0.022	1.813±0.136	0.371±0.035	0.070±0.001	0.146±0.011	0.116±0.014
2	0.148±0.012	1.828±0.025	0.372±0.023	0.067±0.001	0.150±0.032	0.119±0.002
3	0.130±0.020	1.827±0.063	0.396±0.056	0.070±0.007	0.147±0.015	0.119±0.008
均值	0.122±0.018	1.842±0.001	0.446±0.032	0.073±0.004	0.143±0.002	0.122±0.008

样品	质量分数/(mg·g ⁻¹)					
	苯丙氨酸	鸟苷	异亮氨酸	色氨酸	γ-氨基丁酸	甲硫氨酸
1	0.349±0.007	0.055±0.004	1.278±0.041	0.166±0.005	0.380±0.024	0.042±0.005
2	0.345±0.007	0.051±0.001	1.267±0.046	0.164±0.011	0.388±0.035	0.041±0.005
3	0.340±0.008	0.053±0.001	1.368±0.046	0.165±0.013	0.403±0.002	0.059±0.002
均值	0.345±0.007	0.053±0.002	1.305±0.060	0.165±0.008	0.190±0.022	0.047±0.007

样品	质量分数/(mg·g ⁻¹)					
	脯氨酸	缬氨酸	酪氨酸	谷氨酸	赖氨酸	谷氨酰胺
1	0.382±0.006	0.558±0.002	0.217±0.003	0.101±0.004	0.348±0.001	0.046±0.009
2	0.379±0.001	0.557±0.008	0.198±0.002	0.096±0.001	0.315±0.003	0.050±0.001
3	0.365±0.004	0.549±0.008	0.190±0.008	0.092±0.001	0.336±0.009	0.051±0.005
均值	0.376±0.009	0.555±0.007	0.201±0.013	0.096±0.001	0.333±0.017	0.049±0.003

样品	质量分数/(mg·g ⁻¹)				
	天冬酰胺	精氨酸	组氨酸	核苷总量	氨基酸总量
1	1.501±0.058	0.705±0.026	0.213±0.002	2.681±0.060	6.308±0.122
2	1.558±0.037	0.751±0.016	0.022±0.006	2.572±0.206	6.346±0.279
3	1.509±0.011	0.708±0.013	0.021±0.001	2.618±0.094	6.374±0.142
均值	1.523±0.041	0.721±0.027	0.021±0.003	2.624±0.055	6.342±0.033

蛋白质氨基酸 γ-氨基丁酸。其中组成蛋白质的游离氨基酸总量为 (5.95±0.02) mg/g。氨基酸中以天冬酰胺质量分数相对较高, 可达 (1.52±0.04) mg/g。

2.6 脂肪酸类化学成分分析

2.6.1 对照品溶液制备 混合对照品溶液制备: 精密量取混合对照品储备溶液 (棕榈酸甲酯质量浓度

为 1.32 mg/mL, 其他脂肪酸甲酯质量浓度均为 0.66 mg/mL) 0.5 mL, 置于 10 mL 量瓶中, 用正己烷稀释至刻度, 制成棕榈酸甲酯质量浓度为 66 mg/L, 其他脂肪酸甲酯质量浓度均为 33 mg/L 的混合对照品溶液。

2.6.2 内标溶液制备 精密称取苯甲酸甲酯约 1 mg, 精密称定, 置于 10 mL 量瓶中, 并用甲醇溶液稀释至刻度, 配制质量浓度为 0.099 5 mg/mL 的内标溶液。

2.6.3 供试品溶液制备 参考文献方法^[8], 精密称取 1.0 g 黄芪花粉末, 置于 50 mL 锥形瓶中, 加入 10 mL 乙醚, 静置过夜后室温超声提取 30 min, 称重, 用乙醚补足减失质量, 13 000 r/min 离心 10 min, 取上清液适量, 加少量无水硫酸钠, 用 0.22 μ m 的微孔滤膜滤过。精密量取上述滤液 2 mL 置于 10 mL 量瓶中, 再加入浓度为 0.4 mol/L 的氢氧化钾-甲醇溶液 1 mL。振摇 1 min 后静置 15 min, 加超纯水至刻度, 静置分层, 取上层液体约 1 mL 于 2 mL 离心管中, 加入少量无水硫酸钠静置 1 min, 得供试品甲酯化溶液。精密移取上述供试品甲酯化溶液 200 μ L 于 1 mL 量瓶中, 加入 10 μ L 苯甲酸甲酯溶液, 用色谱纯正己烷溶液稀释至刻度, 摇匀, 用 0.22 μ m 的微孔滤膜滤过, 即得样品溶液。

2.6.4 GC-MS/SIM 分析条件

(1) 色谱条件: 参考文献方法^[9], 采用 Agilent HP-5 MS 石英毛细管色谱柱 (30 m $\times$ 0.25 mm, 0.25 μ m), 载气为氦气, 分流比为 20:1, 体积流量为 1 mL/min, 进样口和检测口温度分别为 200 $^{\circ}$ C、250 $^{\circ}$ C; 进样量为 1 μ L。程序升温: 初始温度 50 $^{\circ}$ C, 保持 4 min; 以 10 $^{\circ}$ C/min 升至 140 $^{\circ}$ C, 保持 4 min; 以 2 $^{\circ}$ C/min 升至 180 $^{\circ}$ C; 以 1 $^{\circ}$ C/min 升至 225 $^{\circ}$ C, 保持 3 min; 以 10 $^{\circ}$ C/min 升至 280 $^{\circ}$ C, 保持 2 min。

(2) 质谱条件: 参考文献方法^[9], 电子轰击离子源 (EI), 离子源温度 230 $^{\circ}$ C, 电子能量 70 eV, 气相色谱-质谱接口温度 230 $^{\circ}$ C, 扫描方式: SCAN, 扫描范围 m/z 40~400。特征离子参数参照文献中参数设置^[7]。在选定的条件下, 得到混合脂肪酸甲酯对照品溶液及供试品溶液气相色谱-质谱总离子流色谱图, 见图 3。同时依据不同脂肪酸特征离子中丰度相对较大的碎片离子作为定量离子进行积分。

描述范围 m/z 40~400。特征离子参数参照文献中参数设置^[7]。在选定的条件下, 得到混合脂肪酸甲酯对照品溶液及供试品溶液气相色谱-质谱总离子流色谱图, 见图 3。同时依据不同脂肪酸特征离子中丰度相对较大的碎片离子作为定量离子进行积分。

2.6.5 样品分析及结果 取样品溶液, 按“2.6.3”项下色谱条件下分别进样 1 μ L 进行 GC-MS/SIM 分析。以目标峰与内标物峰面积的比值为纵坐标 (Y), 标准品浓度为横坐标 (X), 按标准曲线法计算各脂肪酸浓度, 根据相应的提取液体积和稀释倍数, 计算样品中各脂肪酸的含量, 测定结果见表 4。

结果显示, 黄芪花中 8 种脂肪酸的总量为 (1.380 $\pm$ 0.086) mg/g。不饱和脂肪酸占脂肪酸总量 41.20%, 其主要组成成分由高到低依次为亚麻酸 (0.220 $\pm$ 0.019) mg/g、亚油酸 (0.216 $\pm$ 0.013) mg/g、

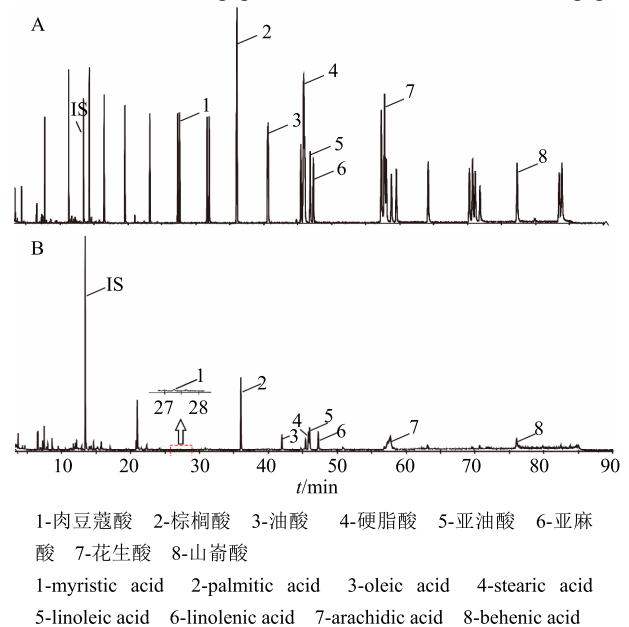


图 3 混合对照品 (A) 和黄芪花样品 (B) 脂肪酸类成分 GC-MS 总离子流图

Fig. 3 Total ion chromatograms of fatty acids in mixed standard solution (A) and flowers of *A. membranaceus* var. *mongholicus* (B) by GC-MS

表 4 样品中脂肪酸类化学成分分析结果 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Table 4 Analysis results of fatty acids in flowers of *A. membranaceus* var. *mongholicus* ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

样品	质量分数/(mg·g ⁻¹)							
	肉豆蔻酸	棕榈酸	油酸	硬脂酸	亚油酸	亚麻酸	花生酸	山嵛酸
1	0.033 $\pm$ 0.002	0.439 $\pm$ 0.004	0.140 $\pm$ 0.007	0.180 $\pm$ 0.006	0.230 $\pm$ 0.011	0.234 $\pm$ 0.007	0.092 $\pm$ 0.003	0.101 $\pm$ 0.004
2	0.030 $\pm$ 0.000	0.444 $\pm$ 0.025	0.131 $\pm$ 0.001	0.172 $\pm$ 0.005	0.215 $\pm$ 0.015	0.223 $\pm$ 0.014	0.094 $\pm$ 0.002	0.096 $\pm$ 0.001
3	0.028 $\pm$ 0.001	0.391 $\pm$ 0.013	0.124 $\pm$ 0.000	0.153 $\pm$ 0.000	0.202 $\pm$ 0.001	0.204 $\pm$ 0.011	0.089 $\pm$ 0.001	0.092 $\pm$ 0.001
均值	0.030 $\pm$ 0.003	0.425 $\pm$ 0.036	0.132 $\pm$ 0.008	0.168 $\pm$ 0.011	0.216 $\pm$ 0.013	0.220 $\pm$ 0.019	0.092 $\pm$ 0.006	0.096 $\pm$ 0.006

油酸(0.132 ± 0.008) mg/g; 其中多不饱和脂肪酸占不饱和脂肪酸的 76.78%。黄芪花中饱和脂肪酸以棕榈酸、硬脂酸、山嵛酸、花生酸和肉豆蔻酸为主要组成成分, 质量分数分别为(0.425 ± 0.036)、(0.168 ± 0.011)、(0.096 ± 0.006)、(0.092 ± 0.006)、(0.030 ± 0.003) mg/g。

3 讨论

黄芪作为传统中药, 目前其种植面积不断增加, 在黄芪栽培过程中^[10], 为了控制黄芪植株生长高度, 减少地上部分养分消耗, 加大根部养分存量, 在 6~7 月进行摘花打顶(除留种田以外), 达到增产的目的。因此黄芪花作为废弃物, 形成了资源的浪费。基于对黄芪花的系统利用与精细化开发, 本研究对黄芪花各类型营养成分的组成及含量进行分析, 结果显示黄芪花中中性多糖和酸性多糖的质量分数基本相近, 分别为(23.24 ± 1.98)、(23.68 ± 0.57) mg/g; 有报道显示, 黄芪植物中含有的多糖类成分具有免疫调节、抗衰老等作用^[11-12]; 另外, 果糖^[13]用于食品业中的优点在于其不易造成龋齿, 在甜度相同的条件下, 果糖的能量值比葡萄糖、蔗糖的能量值低。因此, 基于黄芪花中的糖类成分, 在食品工业中可作为一种功能性甜味剂, 还适用于糖尿病患者。蛋白质是生命活动的基本物质, 它不仅仅是营养的补充, 还提供丰富的功能特性^[14]。有研究显示黄芪茎叶中的蛋白质量分数为 11.8%^[15], 本研究检测到黄芪花中蛋白质质量分数为 47.07%, 是茎叶的 4 倍, 作为食材可以满足人体对植物蛋白的需求。

源于自然生物资源的核苷类及氨基酸类成分是维持生命活动所必需的营养保健成分, 为重要的资源性化学物质。本研究借助 UPLC-TQ-MS 快速高效的色谱分离能力和高分辨率、高灵敏度的多反应离子监测功能, 对黄芪花中 6 种核苷类成分和 15 种氨基酸类成分进行定量分析, 提高了分析结果的可靠性。结果显示, 核苷类成分以尿苷和次黄嘌呤含量相对较高, 氨基酸以天冬酰胺含量最高。尿苷有助于提高细胞的耐缺氧能力, 并能促进蛋白质和核酸的生物合成, 阻断癌细胞和病毒基因合成^[16], 天冬酰胺有助于大脑的发育和正常功能维持, 同时在肿瘤治疗及蛋白质糖基化中扮演重要角色^[17]。脂肪酸如同蛋白质、氨基酸一样, 是人体的必需营养素。本研究借助 GC-MS/SIM 具有根据质谱裂解信息选择特征离子碎片来确认脂肪酸类成分的优势,

且采用外标法用于脂肪酸类成分绝对含量的测定, 提高了方法的准确度和灵敏度, 避免了假阳性结果的出现。脂肪酸及其衍生物可抑制丝状真菌以及酵母菌的生长, 具有抗感染、抗肿瘤、预防心脑血管疾病、糖尿病、老年痴呆、抑郁症等多种功效^[18]。

综上, 本研究对黄芪花中营养成分进行评价, 结果表明, 黄芪花不仅具有很高的营养价值, 更具有很高的药用价值和保健作用。初步揭示了黄芪花中含有潜在营养成分及化学组成, 综合分析本研究有关黄芪花中所含的营养类物质组成及含量, 基于资源利用的多宜性和多用性原则, 提出以种植栽培黄芪过程中产生的花废弃物为原料富集制备食品、营养补充剂或者保健品。最终为延长黄芪资源产业链, 有效减少黄芪深加工过程的资源浪费, 构建形成黄芪精细化利用产业链, 促进我国黄芪资源产业的提质增效和健康发展提供支撑。

参考文献

- [1] 陈虎虎, 龚苏晓, 张铁军, 等. 黄芪茎、叶的化学成分和药理作用研究进展 [J]. 药物评价研究, 2011, 34(2): 134-137.
- [2] 王桂臻, 郝霞, 刘磊, 等. 黄芪花中主要化学成分的定性及定量分析 [J]. 山西医科大学学报, 2017, 48(2): 136-143.
- [3] Kim Y B, Thwe A A, Li X, et al. Accumulation of astragalosides and related gene expression in different organs of *Astragalus membranaceus* Bge. var. *mongholicus* (Bge.) [J]. *Molecules*, 2014, 19(8): 10922-10935.
- [4] 张颖, 郭盛, 严辉, 等. 不同产地不同品种大枣中可溶性糖类成分的分析 [J]. 食品工业, 2016, 37(8): 265-270.
- [5] 刘杰, 郭盛, 段金彪, 等. 黄蜀葵花期不同组织器官中多类型资源性化学成分的分析与利用价值挖掘 [J]. 中国中药杂志, 2016, 41(20): 3782-3791.
- [6] Ge Y, Tang Y, Guo S, et al. Simultaneous quantitation of free amino acids, nucleosides and nucleobases in *Sipunculus nudus* by ultra-high performance liquid chromatography with triple quadrupole mass spectrometry [J]. *Molecules*, 2015, 21(4): 408-426.
- [7] Zhang L L, Bai Y L, Shu S L, et al. Simultaneous quantitation of nucleosides, nucleobases, amino acids, and alkaloids in mulberry leaf by ultra high performance liquid chromatography with triple quadrupole tandem mass spectrometry [J]. *J Sep Sci*, 2014, 37(11): 1265-1275.

- [8] 曹蕊, 杨潇, 蒋珍菊, 等. 红花椒油和青花椒油中脂肪酸组成的 GC-MS 的对比研究 [J]. 中国调味品, 2011, 36(8): 102-105.
- [9] 王锐清, 郭盛, 段金彪, 等. 花椒果实不同部位及其种子油资源性化学成分分析与评价 [J]. 中国中药杂志, 2016, 41(15): 2781-2789.
- [10] 欧克立, 孙国海. 黄芪栽培技术 [J]. 林业与环境科学, 2011, 27(3): 80-82.
- [11] 柏冬志, 东方, 唐文婷, 等. 黄芪多糖药理作用的研究进展 [J]. 黑龙江医药, 2014, 27(1): 103-106.
- [12] 任晋宏, 王永辉, 薛慧清, 等. 蒙古黄芪中核糖核酸酶活性蛋白 AmPR-10 的纯化和性质研究 [J]. 中草药, 2017, 48(19): 3945-3953.
- [13] 蔡雯雯, 李铎. 果糖的吸收代谢以及与健康的关系 [J]. 浙江大学学报: 农业与生命科学版, 2016, 42(3): 265-272.
- [14] 景立新, 林柏全, 战伟, 等. 木槿花中营养成分分析 [J]. 中国卫生检验杂志, 2008, 18(9): 1871-1872.
- [15] 张艳, 周庆民, 徐馨, 等. 黄芪茎叶药物成分及营养成分测定 [J]. 中国草食动物科学, 2016, 36(5): 32-35.
- [16] 周伟平, 高晓霞, 代安国, 等. HPLC 法测定西藏主产区冬虫夏草中尿苷和腺苷的含量 [J]. 广东药学院学报, 2011, 27(6): 591-595.
- [17] Zhang J, Fan J, Venneti S, *et al.* Asparagine plays a critical role in regulating cellular adaptation to glutamine depletion [J]. *Mol Cell*, 2014, 56(2): 205-218.
- [18] 张希, 杨明, 宋飞, 等. 脂肪酸及其衍生物的抑菌活性 [J]. 浙江大学学报: 农业与生命科学版, 2013, 39(2): 155-160.