

黄芪物理与粒径指纹图谱构建及其对 2 种品规药材质量评价

李若彤¹, 胡英还^{2,3}, 郭瑶¹, 史静超^{2,3}, 李爱平¹, 于舒婷^{2,3*}, 秦雪梅^{1,2*}

1. 山西大学 中医药现代研究中心, 山西 太原 030006

2. 山西中医药大学太行本草研究院, 山西 晋中 030619

3. 山西中医药大学中药与食品工程学院, 山西 晋中 030619

摘要: **目的** 建立黄芪 *Astragali Radix* 标准汤剂的物理指纹图谱及粒径指纹图谱, 用于区分仿野生黄芪与平栽黄芪 2 种品规药材的质量, 进一步发现中药质量标志物 (quality marker, Q-Marker) 的物理化学指标。 **方法** 制备 10 批仿野生与 12 批平栽黄芪标准汤剂, 以电导率、溶解性固体总量、盐度、电阻率、pH 值、 ζ 电位、多分散指数 (polydispersity index, PDI)、Z 均值 (平均粒径) 8 个物理化学指标构建黄芪标准汤剂物理指纹图谱; 采用流式细胞仪测定黄芪标准汤剂 100~200、200~300、300~400、400~500、500~600、600~700、700~800、800~900、900~1 000 nm 9 个粒径区间颗粒数量占比, 构建粒径指纹图谱; 应用相似度评价、主成分分析 (principal component analysis, PCA)、层次聚类分析 (hierarchical cluster analysis, HCA) 对物理和粒径指纹图谱进行分析评价。 **结果** 建立了 22 批仿野生与平栽黄芪标准汤剂的物理指纹图谱, 多元统计分析结合 Mann-Whitney U 检验分析发现, ζ 电位与 Z 均值是区分 2 种品规黄芪的敏感物理化学指标, 且仿野生黄芪的 ζ 电位绝对值及 Z 均值均显著低于平栽黄芪 ($P < 0.05$); 进一步检测黄芪标准汤剂粒径区间颗粒数量占比, 发现 100~200 nm 占比最大, 200~300 nm 次之, 其余区间颗粒数量占比比较小。粒径指纹图谱 PCA 和 HCA 结果表明, 仿野生黄芪和平栽黄芪有明显分离的趋势。差异分析表明, 仿野生黄芪在 100~200 nm 粒径区间颗粒数量占比显著高于平栽黄芪, 剩余 8 个粒径区间颗粒数量占比, 平栽黄芪均显著高于仿野生黄芪 ($P < 0.05$); 综合偏最小二乘-判别分析 (partial least squares-discriminant analysis, PLS-DA) 和随机森林筛选潜在特征粒径区间, 发现 400~500、500~600 nm 粒径区间对于区分 2 种品规黄芪的贡献最大。 **结论** 从中药多分散体系角度, 用多指标物理指纹图谱与粒径指纹图谱获得了 3 个参数: ζ 电位、Z 均值与粒径区间颗粒数量占比, 可对 2 种品规的黄芪进行质量差异性评价, 初步筛选了 2 个潜在特征粒径区间用以区分不同品规黄芪, 为黄芪的质量控制和 Q-Marker 新指标的发现提供研究依据。

关键词: 仿野生黄芪; 平栽黄芪; 物理指纹图谱; 粒径指纹图谱; 质量评价; 质量标志物; 标准汤剂; 主成分分析; 层次聚类分析; 偏最小二乘-判别分析; 随机森林; 芒柄花苷; 黄芪皂苷 II; 芒柄花素; 黄芪紫檀烷

中图分类号: R283.6 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2026)20-8296-16

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2026.20.028

Establishment of physical and particle size fingerprints for quality assessment of *Astragali Radix* in two commercial grades

LI Ruotong¹, HU Yinghuan^{2,3}, GUO Yao¹, SHI Jingchao^{2,3}, LI Aiping¹, YU Shuting^{2,3}, QIN Xuemei^{1,2}

1. Modern Research Center for Traditional Chinese Medicine, Shanxi University, Taiyuan 030006, China

2. Institute of Taihang Materia Medica, Shanxi University of Chinese Medicine, Jinzhong 030619, China

3. School of Traditional Chinese Materia Medica and Food Engineering, Shanxi University of Chinese Medicine, Jinzhong 030619, China

Abstract: Objective To establish a physical fingerprint and a particle size fingerprint of standard decoction of Huangqi (*Astragali Radix*, AR) for distinguishing the quality of two types of crude drugs: wild-simulated and horizontally transplanted AR, and further discover the physicochemical indicators of traditional Chinese medicine quality markers. **Methods** Ten batches of wild-simulated and

收稿日期: 2026-06-10

基金项目: 国家自然科学基金联合基金项目 (U23A20517)

作者简介: 李若彤, 硕士研究生, 从事中药质量评价研究。E-mail: 17835934076@163.com

*通信作者: 秦雪梅, 教授, 博士生导师, 从事中医药代谢组学研究与创新药物研发。E-mail: qinxm@sxu.edu.cn

于舒婷, 讲师, 硕士生导师, 从事中药药效物质基础及质量评价研究。Email: yushuting@sxtcm.edu.cn

twelve batches of transplanted AR standard decoctions were prepared. A physical fingerprint was constructed using eight physicochemical indices, including conductivity, total dissolved solids, salinity, resistivity, pH value, ζ potential, polydispersity index (PDI), and Z-average (average particle size). A particle size fingerprint was established by determining the particle number percentages within nine particle size intervals (100—200, 200—300, 300—400, 400—500, 500—600, 600—700, 700—800, 800—900, and 900—1 000 nm) using a flow cytometer. Similarity evaluation, principal component analysis (PCA), and hierarchical cluster analysis (HCA) were applied to analyze the physical fingerprints and particle size fingerprints. **Results** Physical fingerprints of 22 batches of wild-simulated AR and transplanted AR standard decoctions were established. Multivariate statistical analysis combined with the Mann-Whitney U test revealed that ζ potential and Z-average were sensitive physicochemical indicators for distinguishing the two specifications of AR. Moreover, the absolute value of ζ potential and the Z-average of wild-simulated AR were significantly lower than those of transplanted AR ($P < 0.05$). Further analysis of the particle count percentage in standard decoction of AR showed that particles in the 100–200 nm interval accounted for the highest percentage, followed by the 200–300 nm range, while the remaining size intervals showed smaller percentages. PCA and HCA of the particle size fingerprints showed a clear separation trend between wild-simulated and transplanted AR. Differential analysis indicated that the particle count percentage of wild-simulated AR was significantly higher than that of transplanted AR in the 100–200 nm interval, whereas transplanted AR had significantly higher percentages in the other eight intervals ($P < 0.05$). Subsequently, by integrating the potential characteristic particle size intervals identified by partial least squares-discriminant analysis (PLS-DA) and random forest, the 400–500 nm and 500–600 nm intervals were found to contribute the most to distinguishing the two specifications of AR. **Conclusion** The quality differences between two specifications of AR were evaluated from the perspective of the polydisperse system, using multi-index physical fingerprints and particle size fingerprints. Three parameters were identified for quality evaluation, including ζ potential, Z-average, and the particle count percentages in particle size intervals. Two potential characteristic particle size intervals were preliminarily screened to distinguish different specifications of AR, providing a research basis for its quality control and discovery of new indicators for quality markers.

Key words: wild-simulated *Astragali Radix*; transplanted *Astragali Radix*; physical fingerprint; particle size fingerprint; quality evaluation; quality markers; standard decoction; principal component analysis; hierarchical cluster analysis; partial least squares-discriminant analysis; random forest; ononin; astragaloside II; formononetin; astrapterocarpin

黄芪为豆科黄芪属植物蒙古黄芪 *Astragalus membranaceus* (Fisch.) Bge. var. *mongholicus* (Bge.) Hsiao 或膜荚黄芪 *A. membranaceus* (Fisch.) Bge. 的干燥根。目前, 蒙古黄芪是黄芪药材市场的主流商品, 从种植方式划分其包括仿野生黄芪与平栽黄芪 2 种商品规格 (称“品规”)。仿野生黄芪采用种子直播, 种植时间较长, 生长年限一般在 5~6 年甚至更长, 根系较长难以采挖, 随着用药需求增大, 资源短缺, 市场价格较高; 平栽黄芪, 简称栽培芪, 采用育苗移栽方式种植, 生长年限短, 一般在 2~3 年, 较易采挖, 市场价格较为便宜, 逐渐成为黄芪药材市场上的主流商品^[1]。目前《中国药典》2025 年版^[2]以黄芪甲苷和毛蕊异黄酮葡萄糖苷等化学成分的含量来进行质量判别, 2 种植方式下的黄芪均符合要求, 但从个别成分含量高低的角度, 并不能评价药材质量的优劣。

目前, 化学指纹图谱^[3]、代谢组学^[4-5]是黄芪质量一致性评价的常用方法, 但这些方法主要聚焦于化学成分的定性定量分析, 未考量中药在煎煮过程中化学成分间的相互作用, 无法全面表征中药汤剂的质量。中药汤剂的物理属性也与药效之间存在着

必然联系。已有研究^[6-8]以电导率、溶解性固体总量、盐度、电阻率及 pH 值等多种物理指标构建中药汤剂的物理指纹图谱来进行质量评价。同时, 马尔文粒度仪快速测量颗粒整体粒径分布、Z 均值、 ζ 电位、多分散指数 (polydispersity index, PDI), 目前, 已有研究将其应用于中药汤剂的物理表征上^[9-10]; 本课题组在以上物理指纹图谱的基础上, 根据流式细胞仪的分析原理, 首次将其应用于中药汤剂混相体系的粒径分布分析, 采用标准尺度微球进行仪器校正, 得到不同尺寸下的粒径数量占比^[11]。这些指标均能反映中药汤剂的物理化学特性, 与其质量密切相关。因此, 本研究以中药标准汤剂为分析对象选择电导率、溶解性固体总量、盐度、电阻率、pH 值、 ζ 电位、PDI、Z 均值 8 个指标构建物理指纹图谱, 也称“雷达图”, 从构建的雷达图形式的物理指纹图谱中初步发现 2 种品规的黄芪在 Z 均值及 ζ 电位存在区别, 因此进一步对粒径这一物理指标进行研究, 采用流式细胞仪对黄芪标准汤剂的粒径区间进行划分, 建立粒径指纹图谱, 用于评估仿野生与平栽黄芪的差异, 旨在从物理属性角度为中药质量控制及其一致性评价提供参考。

1 仪器与材料

1.1 仪器

A-AB33EC 型电导率仪,奥豪斯仪器有限公司; PHS-3C 型 pH 计,上海仪电科学仪器股份有限公司; Zetasizer Pro 马尔文帕纳科纳米粒度电位仪,英国 Malvern 仪器有限公司; DTS1070 马尔文电位样品池,宜兴市谱析光学元件有限公司; Cyto Flex S 型流式细胞仪,美国 Beckman 公司; RE-2000A 型旋转蒸发仪,上海亚荣生化仪器厂。

1.2 试剂与材料

Cyto Flex 即用型日常 QC 微球,美国 Beckman Coulter 公司; 尺度标准微球: 100 nm (批号 PS2115802F)、200 nm (批号 012420102F)、300 nm (批号 012324202B)、400 nm (批号 012432802B)、500 nm (批号 2134009A)、600 nm (批号

012510402A)、700 nm (批号 012510402B)、800 nm (批号 012510402C)、900 nm (批号 012510402D)、1 000 nm (批号 012225802A),苏州为度生物技术有限公司; 400 目尼龙筛网,北京索莱宝科技有限公司; 实验室纯化水。

1.3 药材

收集了 10 批 (F1~F10) 仿野生黄芪与 12 批 (Y1~Y12) 平栽黄芪进行物理指标与粒径区间检测,其余 7 批 (F11~F17) 仿野生及 6 批 (Y13~Y18) 平栽黄芪作为粒径特征区间独立验证样本,编号和产地信息见表 1。实验所用黄芪药材均经山西大学中医药现代研究中心秦雪梅教授鉴定,为豆科黄芪属植物蒙古黄芪 *A. membranaceus* (Fisch.) Bge. var. *mongholicus* (Bge.) Hsiao 的干燥根,均符合《中国药典》2025 年版规定。

表 1 22 批黄芪药材饮片的样品信息
Table 1 Origin information of 22 batches of *Astragali Radix* (AR)

编号	产地	种植方式	编号	产地	种植方式	编号	产地	种植方式
F1、F2	山西省大同市广灵县	仿野生	F13	山西省大同市天镇县	仿野生	Y11~Y14	甘肃省	平栽
F3~F6	山西省大同市浑源县	仿野生	F14、F15	山西省大同市浑源县	仿野生	Y15、Y16	内蒙古自治区	平栽
F7、F8	山西省朔州市应县	仿野生	F16、F17	山西省朔州市应县	仿野生	Y17	山西省朔州市应县	平栽
F9	山西省忻州市五台县	仿野生	Y1、Y2	山西省朔州市应县	平栽	Y18	山西省忻州市五寨县	平栽
F10	陕西省	仿野生	Y3~Y5	山西省忻州市五寨县	平栽			
F11、F12	山西省大同市广灵县	仿野生	Y6~Y10	山西省忻州市五台县	平栽			

2 方法与结果

2.1 黄芪标准汤剂的制备

参照文献报道^[12]制备黄芪标准汤剂,称取黄芪饮片 10 g,一煎加入 8 倍量水,浸泡 30 min,煮沸后调至文火继续煎煮 60 min,滤过;二煎加入 6 倍量水,煮沸后煎煮 30 min,滤过;合并滤液,体积浓缩至 5 倍生药量,得黄芪标准汤剂。

2.2 黄芪标准汤剂物理指纹图谱的构建

2.2.1 黄芪标准汤剂物理指标测定方法 参考文献报道^[6-8],对黄芪标准汤剂的物理指标进行测定,选取电导率、溶解性固体总量、盐度、电阻率、pH 值、ζ 电位、PDI、Z 均值 8 个物理指标。具体测定方法如下。

(1) 电导率、溶解性固体总量 (total dissolved solids, TDS)、盐度、电阻率: 采用电导率仪进行测量,测量前需进行仪器校准,校准成功后,将电极完全浸入被测溶液,进行检测,记录数据。

(2) pH 值: 采用 pH 计 (电极法) 进行测定,测定之前需使用标准缓冲溶液校正仪器。

(3) ζ 电位、PDI、Z 均值: 采用马尔文粒度仪进行测量。

2.2.2 方法学考察

(1) 精密度实验: 取样品 Y1 相应的供试品溶液,按照上述测定方法分别连续进样测定 6 次,记录 8 个物理指标测定结果,计算得各物理指标的 RSD 值如表 2 所示,除 Z 均值、PDI 外,均小于 10%,满足测定要求。

(2) 重复性试验: 取样品 Y1,依照“2.1”项下制备方法,平行制备 6 份黄芪标准汤剂后,按照上述测定方法对 6 份供试品溶液进行 8 个物理指标的检测,计算得各物理指标的 RSD 值如表 2 所示,除 ζ 电位、Z 均值和 PDI 外,均小于 10%,满足测定要求。

(3) 稳定性试验: 取样品 Y1 供试品溶液,分别在室温 (25 ℃) 下放置 0、1、2、4、6、8 h 后分别进样测定,记录 8 个物理指标测定结果,计算得各物理指标的 RSD 值如表 2 所示,除 Z 均值和 PDI 外,均小于 10%,满足测定要求。

表 2 物理指标测定方法学考察结果
Table 2 Validation results for analytical methodology of physical indicators

物理指标	RSD/%			物理指标	RSD/%		
	精密度	重复性	稳定性		精密度	重复性	稳定性
电导率	3.60	6.84	5.70	pH值	1.29	1.63	1.32
TDS	3.56	6.85	5.21	ζ电位	7.45	24.63	5.71
盐度	3.85	7.25	5.44	Z均值	18.54	30.49	22.33
电阻率	3.61	6.71	5.10	PDI	21.72	44.80	56.25

表 3 22 批黄芪标准汤剂物理指标参数检测结果及其标准化数值

Table 3 Detection results and standardized values of physical indicators of 22 batches of AR standard decoctions

样品	电导率/ (mS·cm ⁻¹)	TDS/ (g·L ⁻¹)	盐度	电阻率/ Ω	pH值	ζ电位/ mV	Z均值/ nm	PDI	标准化数值							
									电导率	TDS	盐度	电阻率	pH	ζ电位	Z均值	PDI
F1	3.099	1.549	1.614	323	5.58	-3.950	1 309.702	0.869	3.099	6.197	6.455	6.460	5.58	1.975	4.655	8.690
F2	2.401	1.200	1.233	421	5.91	-5.673	788.578	1.000	2.401	4.801	4.931	8.427	5.91	2.837	4.394	10.000
F3	2.441	1.227	1.260	407	5.33	-3.727	1 694.197	1.000	2.441	4.907	5.039	8.147	5.33	1.864	4.847	10.000
F4	2.833	1.417	1.466	353	5.44	-4.826	908.900	0.695	2.833	5.667	5.864	7.060	5.44	2.413	4.454	6.950
F5	2.700	1.350	1.394	371	6.00	-5.588	683.842	0.815	2.700	5.399	5.575	7.425	6.00	2.794	4.342	8.150
F6	2.766	1.383	1.429	362	5.53	-5.604	1 884.166	1.000	2.766	5.533	5.716	7.233	5.53	2.802	4.942	10.000
F7	2.254	1.127	1.154	445	5.94	-5.272	658.939	0.664	2.254	4.508	4.615	8.900	5.94	2.636	4.329	6.640
F8	2.430	1.215	1.249	411	5.57	-4.792	791.339	0.860	2.430	4.861	4.997	8.227	5.57	2.396	4.396	8.600
F9	2.220	1.110	1.134	451	5.74	-4.069	605.156	0.941	2.220	4.440	4.535	9.020	5.74	2.035	4.303	9.410
F10	2.464	1.232	1.266	406	5.41	-6.787	1 376.883	0.809	2.464	4.928	5.065	8.113	5.41	3.394	4.688	8.090
R-F1	2.561	1.281	1.320	395	5.65	-5.029	1 070.170	0.865	2.561	5.124	5.279	7.901	5.64	2.514	4.535	8.653
Y1	2.745	1.373	1.418	364	5.76	-8.154	5 445.607	0.505	2.745	5.492	5.673	7.280	5.76	4.077	6.723	5.050
Y2	2.403	1.201	1.233	416	5.91	-9.396	9 064.655	0.590	2.403	4.805	4.931	8.320	5.91	4.698	8.532	5.900
Y3	2.466	1.233	1.267	407	5.54	-4.808	1 643.119	0.819	2.466	4.932	5.069	8.147	5.54	2.404	4.822	8.190
Y4	2.085	1.042	1.063	480	5.65	-6.074	3 317.486	0.390	2.085	4.169	4.252	9.593	5.65	3.037	5.659	3.900
Y5	2.568	1.284	1.324	390	5.57	-5.498	4 363.673	0.402	2.568	5.137	5.296	7.793	5.57	2.749	6.182	4.020
Y6	2.184	1.092	1.114	458	5.67	-7.717	1 539.381	0.912	2.184	4.368	4.457	9.160	5.67	3.859	4.770	9.120
Y7	2.025	1.012	1.031	494	5.97	-7.239	440.311	1.000	2.025	4.048	4.124	9.880	5.97	3.620	4.220	10.000
Y8	2.747	1.373	1.419	364	5.51	-5.231	1 365.433	0.919	2.747	5.493	5.676	7.280	5.51	2.616	4.683	9.190
Y9	2.669	1.334	1.377	375	5.51	-6.427	1 126.797	1.000	2.669	5.337	5.507	7.500	5.51	3.214	4.563	10.000
Y10	2.413	1.207	1.238	415	5.39	-8.012	2 132.388	0.890	2.413	4.827	4.951	8.293	5.39	4.006	5.066	8.900
Y11	2.590	1.295	1.335	390	6.20	-4.886	1 013.757	0.855	2.590	5.180	5.340	7.800	6.20	2.443	4.507	8.550
Y12	2.719	1.360	1.406	368	5.65	-4.816	9 288.484	0.612	2.719	5.439	5.623	7.353	5.65	2.408	8.644	6.120
R-Y1	2.468	1.234	1.269	410	5.70	-6.522	3 395.091	0.741	2.468	4.936	5.075	8.200	5.70	3.261	5.698	7.412

表 4 物理指标标准化转换方法

Table 4 Standardized conversion method of physical indicators

物理指标	单位	数值范围	转换公式	物理指标	单位	数值范围	转换公式	物理指标	单位	数值范围	转换公式
电导率	mS·cm ⁻¹	2~4	—	电阻率	kΩ	0~0.5	20x	Z均值	nm	400~9 500	x/2 000+4
TDS	g·L ⁻¹	1~2.5	4x	pH值	—	5~7	—	PDI	—	0~1	10x
盐度	—	1~2.5	4x	ζ电位	—	-3~-15	-x/2				

后的 10 批仿野生与 12 批平栽黄芪标准汤剂物理指标的平均值 (R-F1、R-Y1) 所构成的不规则八边形

2.2.3 22 批黄芪标准汤剂的物理指标测定及其标准化转化 22 批样品按照“2.2.1”项下方法平行测量 3 次, 取平均值, 结果见表 3。按照表 4 中物理指标标准化转换方法进行标准化转化^[13-14], 结果见表 3。

2.2.4 黄芪标准汤剂物理指纹图谱的构建 采用 Origin 2024 中的雷达图将转换后的 22 批黄芪标准汤剂物理指标连接起来, 构成不规则的八边形, 即黄芪标准汤剂的物理指纹图谱^[15] (图 1-A)。以转换

作为对照物理指纹图谱 (图 1-B)。构建的物理指纹图谱可直接表现黄芪标准汤剂各物理指标之间差异。

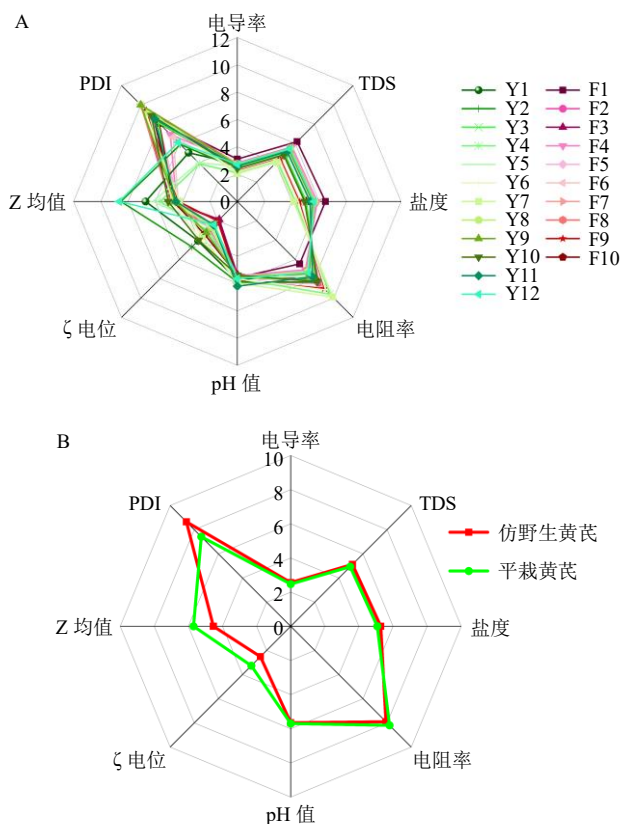


图 1 22 批黄芪标准汤剂叠加物理指纹图谱 (A) 和仿野生与平栽黄芪标准汤剂的对照物理指纹图谱 (B)
Fig. 1 Overlay physical fingerprint of 22 batches of AR standard decoction (A), and comparative physical fingerprint of wild-simulated and transplanted AR standard decoction (B)

直观上可以观察到 22 批黄芪在电导率、TDS、盐度、电阻率、pH 值这 5 个指标较为集中，而 Z 均值与 ζ 电位有所差异；进一步采用 Mann-Whitney U 检验对仿野生黄芪与平栽黄芪的各物理指标进行差异比较，发现仿野生黄芪在 ζ 电位绝对值以及 Z 均值指标上显著低于平栽黄芪 ($P < 0.05$)，其他物理指标无显著性差异 (表 5)；由于实验样本同时涉及山西、甘肃、内蒙古等多个产地，所以采用 SPSS 27 软件引入以“产地”为随机效应、以“种植方式”为固定效应的线性混合效应模型 (linear mixed-effects models, LMM) 剥离产地干扰，各变量显著性见表 6，ζ 电位与 Z 均值指标 $P < 0.05$ ，说明这 2 个变量在种植方式上的显著差异未受到产地影响。

2.2.5 物理指纹图谱的相似度评价 通过构建雷达图，发现物理指纹图谱作为中药水煎液质量评价方法，不仅能综合表征其物理属性，还能直观展示出不同批次间物理指标的相似或差异程度。进一步采

表 5 10 批仿野生与 12 批平栽黄芪物理指标显著性差异比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 5 Comparison of significant differences in physical indicators between 10 batches of wild-simulated and 12 batches of transplanted AR ($\bar{x} \pm s$)

样品	n	电导率/ ($\text{mS} \cdot \text{cm}^{-1}$)	TDS/($\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$)	盐度	电阻率/ Ω
仿野生黄芪	10	2.561 ± 0.279	5.124 ± 0.557	5.279 ± 0.606	7.901 ± 0.830
平栽黄芪	12	2.468 ± 0.255	4.936 ± 0.510	5.075 ± 0.550	8.200 ± 0.901

样品	n	pH 值	ζ 电位/mV	Z 均值/nm	PDI
仿野生黄芪	10	5.64 ± 0.24	2.514 ± 0.474	4.535 ± 0.231	8.653 ± 1.227
平栽黄芪	12	5.70 ± 0.23	$3.261 \pm 0.777^*$	$5.698 \pm 1.536^*$	7.412 ± 2.276

与仿野生黄芪比较：* $P < 0.05$ 。

* $P < 0.05$ vs wild-simulated AR.

表 6 各物理指标 LMM 分析结果

Table 6 LMM analysis results of physical indicators

物理指标	P 值	物理指标	P 值	物理指标	P 值
电导率	0.424	电阻率	0.432	Z 均值	0.014
TDS	0.418	pH 值	0.630	PDI	0.109
盐度	0.417	ζ 电位	0.001		

用 SPSS 27 软件对转换后的 22 批黄芪标准汤剂物理指标进行相似度评价，计算黄芪标准汤剂各批次间 Spearman 相关系数，结果如表 7~9 所示；仿野生黄芪与平栽黄芪分别以各自的物理指标平均值 (R-F1、R-Y1) 为对照，得到 22 批黄芪标准汤剂的相似度。与各自的对照相比，相似度绝对值越接近 1，表明标准汤剂间物理性质越相近。从组内平均相似度来看，仿野生黄芪样本组内平均相似度为 0.942 (> 0.90)，平栽黄芪样本组内平均相似度为 0.753

表 7 10 批仿野生黄芪标准汤剂物理指标的相似度评价

Table 7 Similarity evaluation of physical indicators for 10 batches of standard decoction of wild-simulated AR

样品	相似度										
	F1	F2	F3	F4	F5	F6	F7	F8	F9	F10	R-F1
F1	1.000										
F2	0.905	1.000									
F3	0.929	0.976	1.000								
F4	0.976	0.881	0.905	1.000							
F5	0.905	1.000	0.976	0.881	1.000						
F6	0.976	0.929	0.905	0.952	0.929	1.000					
F7	0.881	0.976	0.952	0.905	0.976	0.905	1.000				
F8	0.929	0.976	1.000	0.905	0.976	0.905	0.952	1.000			
F9	0.929	0.976	1.000	0.905	0.976	0.905	0.952	1.000	1.000		
F10	0.881	0.976	0.952	0.905	0.976	0.905	1.000	0.952	0.952	1.000	
R-F1	0.929	0.976	1.000	0.905	0.976	0.905	0.952	1.000	1.000	0.952	1.000

表 8 12 批平裁黄芪标准汤剂物理指标的相似度评价
Table 8 Similarity evaluation of physical indicators of 12 batches of standard decoction of transplanted AR

样品	相似度											
	Y1	Y2	Y3	Y4	Y5	Y6	Y7	Y8	Y9	Y10	Y11	Y12
Y1	1.000											
Y2	0.905	1.000										
Y3	0.476	0.548	1.000									
Y4	1.000	0.905	0.476	1.000								
Y5	1.000	0.905	0.476	1.000	1.000							
Y6	0.738	0.833	0.881	0.738	0.738	1.000						
Y7	0.619	0.786	0.905	0.619	0.619	0.976	1.000					
Y8	0.452	0.500	0.976	0.452	0.452	0.833	0.857	1.000				
Y9	0.500	0.571	0.976	0.500	0.500	0.905	0.929	0.952	1.000			
Y10	0.619	0.786	0.905	0.619	0.619	0.976	1.000	0.857	0.929	1.000		
Y11	0.476	0.548	1.000	0.476	0.476	0.881	0.905	0.976	0.976	0.905	1.000	
Y12	0.810	0.952	0.619	0.810	0.810	0.833	0.810	0.595	0.595	0.810	0.619	1.000
R-Y1	0.762	0.881	0.810	0.762	0.762	0.976	0.952	0.786	0.833	0.952	0.810	0.905

表 9 22 批黄芪标准汤剂物理指标的相似度评价
Table 9 Similarity evaluation of physical indicators for 22 batches of standard decoction of AR

编号	与R-F1相似度	编号	与R-F1相似度	编号	与R-Y1相似度	编号	与R-Y1相似度
F1	0.929	F7	0.952	Y1	0.762	Y7	0.952
F2	0.976	F8	1.000	Y2	0.881	Y8	0.786
F3	1.000	F9	1.000	Y3	0.810	Y9	0.833
F4	0.905	F10	0.952	Y4	0.762	Y10	0.952
F5	0.976			Y5	0.762	Y11	0.810
F6	0.905			Y6	0.976	Y12	0.905

(<0.80)，表明仿野生黄芪在物理化学性质上具有较高的一致性；而 2 组间的平均相似度为 0.757 (<0.80 ，表 10)，也说明了 2 种品规黄芪在物理化学指标上存在一定差异。

2.2.6 物理指纹图谱的主成分分析 (principal component analysis, PCA) PCA 是一种运用降维方式简化数据集的技术，将多指标转化为少数几个综合指标^[16]。使用 SPSS 27 软件先对数据进行 KMO (Kaiser-Meyer Olkin) 和巴特利特检验，结果发现 $KMO>0.5$ ，巴特利特检验显著性 <0.05 ，表明该研究变量之间相关性良好 (表 11)，满足 PCA 前提条件，可以进行 PCA，并计算主成分特征值及方差贡献率^[17]。通过 SIMCA 14.1 软件对 22 批黄芪标准汤剂的物理指纹图谱数据进行 PCA，利用 Hotelling's T^2 和 DModX 控制图对 22 批黄芪标准汤剂进行质量检测，通常情况下，在控制线之内的样品为正常

表 10 22 批黄芪标准汤剂物理指标组间相似度评价
Table 10 Inter-group similarity evaluation of physical indicators for 22 batches of AR

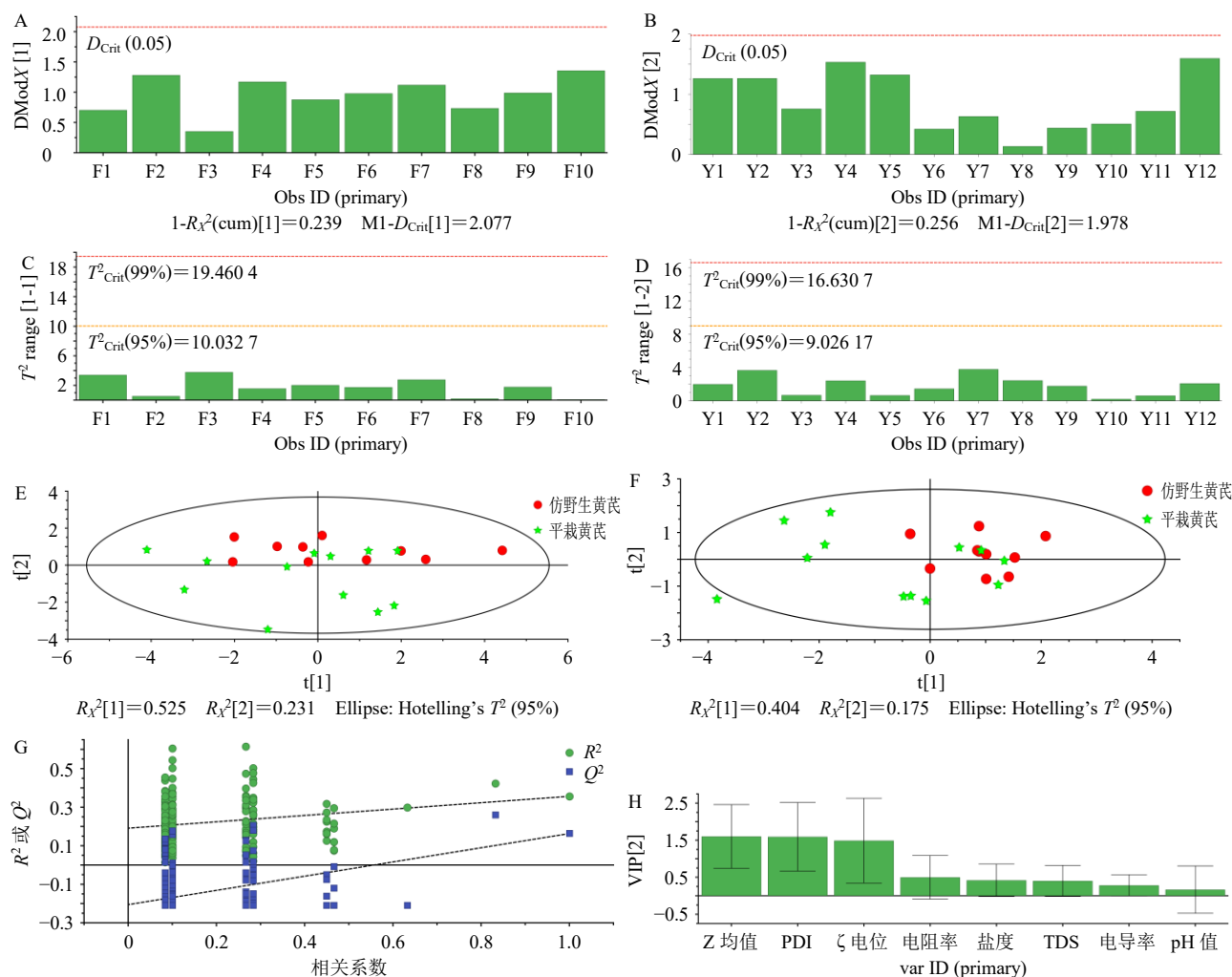
样品	相似度									
	F1	F2	F3	F4	F5	F6	F7	F8	F9	F10
Y1	0.405	0.500	0.476	0.524	0.500	0.429	0.619	0.476	0.476	0.619
Y2	0.429	0.571	0.548	0.476	0.571	0.452	0.619	0.548	0.548	0.619
Y3	0.929	0.976	1.000	0.905	0.976	0.905	0.952	1.000	1.000	0.952
Y4	0.405	0.500	0.476	0.524	0.500	0.429	0.619	0.476	0.476	0.619
Y5	0.405	0.500	0.476	0.524	0.500	0.429	0.619	0.476	0.476	0.619
Y6	0.762	0.905	0.881	0.786	0.905	0.786	0.929	0.881	0.881	0.929
Y7	0.786	0.929	0.905	0.762	0.929	0.810	0.905	0.905	0.905	0.905
Y8	0.976	0.952	0.976	0.952	0.952	0.952	0.929	0.976	0.976	0.929
Y9	0.905	1.000	0.976	0.881	1.000	0.929	0.976	0.976	0.976	0.976
Y10	0.786	0.929	0.905	0.762	0.929	0.810	0.905	0.905	0.905	0.905
Y11	0.929	0.976	1.000	0.905	0.976	0.905	0.952	1.000	1.000	0.952
Y12	0.548	0.595	0.619	0.571	0.595	0.524	0.619	0.619	0.619	0.619

表 11 KMO 和巴特利特球形度检验
Table 11 KMO measure and Bartlett's test of sphericity

KMO和巴特利特检验		
KMO取样适切性量数		0.668
巴特利特球形度检验	近似卡方	445.321
	自由度	28
	显著性	<0.05

样品，超出控制线的样品为异常样品^[18]。22 批黄芪标准汤剂的 Hotelling's T^2 和 DModX 控制图如图 2-A~D 所示，图中的 T^2 临界值 (95%) 和 D 临界值 (0.05) 为控制限，控制图显示，22 批黄芪标准汤剂均在 Hotelling's T^2 和 DModX 的警戒限内。并从其得分图 (图 2-E) 看出仿野生黄芪较平裁黄芪更为聚集，说明仿野生黄芪的质量较平裁黄芪更为均一，与相似度评价结果一致。

进一步构建了偏最小二乘-判别分析 (partial least squares-discriminant analysis, PLS-DA) 模型，得分图 (图 2-F) 显示，仿野生黄芪大多位于散点图右半部分，平裁黄芪大多位于得分图的左半部分，能够基本分离，表明 2 组样本间的整体理化特性存在差异。为验证模型有效性，进行了 200 次置换检验 (图 2-G)，结果显示， Q^2 回归线在 Y 轴的截距为 -0.20，远低于 0，证明模型未出现过拟合，具有良好的预测能力。进一步通过变量重要性投影 (variable importance projection, VIP) 值 (图 2-H) 筛选关键差异变量，以 $VIP>1.0$ 为标准，共筛选出 Z 均值、PDI、 ζ 电位为重要区分变量。



A、B-仿野生与平栽黄芪物理指标 DModX 控制图；C、D-仿野生与平栽黄芪物理指标 Hotelling's T^2 控制图；E-物理指标 PCA 得分图；F-物理指标 PLS-DA 得分图；G-置信检验图；H-VIP 图。

A, B-DModX control charts for physical indicators of wild-simulated and transplanted AR; C, D-Hotelling's T^2 control charts for physical indicators of wild-simulated and transplanted AR; E-PCA score plot of physical indicators; F-PLS-DA score plot of physical indicators; G-permutation test plot; H-VIP plot.

图 2 22 批黄芪标准汤剂物理指标 PCA

Fig. 2 PCA of physical indicators for 22 batches of standard decoction of AR

综合 VIP 值以及 Mann-Whitney U 检验分析结果，最终确定 Z 均值与 ζ 电位为仿野生与平栽黄芪的差异敏感物理化学指标，并进一步对黄芪标准汤剂的粒径进行系统表征。

2.3 黄芪标准汤剂粒径指纹图谱的构建

物理指标测定结果表明，Z 均值为仿野生与平栽黄芪的差异敏感物理指标，而方法学考察结果显示，马尔文粒度仪所测 Z 均值精密性、重复性等并不理想，因此采用流式细胞仪对黄芪标准汤剂的粒径进行系统表征，进一步验证上述结果。

2.3.1 尺度标准微球溶液制备 分别取 100、200、300、400、500、600、700、800、900、1 000 nm 尺度标准微球，用纯化水稀释 1 000~10 000 倍，为防

止微球聚集，涡旋混匀后上机检测，浓度由低到高依次检测，直至能准确圈定有效微球范围，并且满足仪器丢弃率<10%的前提，即为该尺度标准微球检测浓度。

2.3.2 供试品溶液的制备 同“2.1”项下制备方法，制得黄芪标准汤剂，涡旋混匀，经 400 目尼龙筛网滤过，即得黄芪标准汤剂供试品溶液。

2.3.3 仪器参数的优化和粒径区域的圈定 采用 Cyto Flex S 流式细胞仪 v450 通道进行分析，将“2.3.1”项下已知粒径大小的标准化微球依次上样，不断优化调整仪器参数增益和阈值。最终在增益为 400，阈值 4 000 时，水与 100 nm 微球，各粒径范围微球均可以明显分离，在此基础上有效圈定粒径

区域,确定参数用于后续供试品溶液的检测(图3)。各样本以固定总颗粒数为 100 000 进行采集,其中,空白背景水、粒径小于 100 nm、大于 1 000 nm 以及未落入 9 个圈定粒径区域的颗粒数不计入区间颗粒数量。每进 5 个样,用纯水进行清洗,并分析空白背景(水)颗粒数,确保仪器分析背景无干扰。

粒径区间颗粒占比=区间颗粒数量/检测总颗粒数

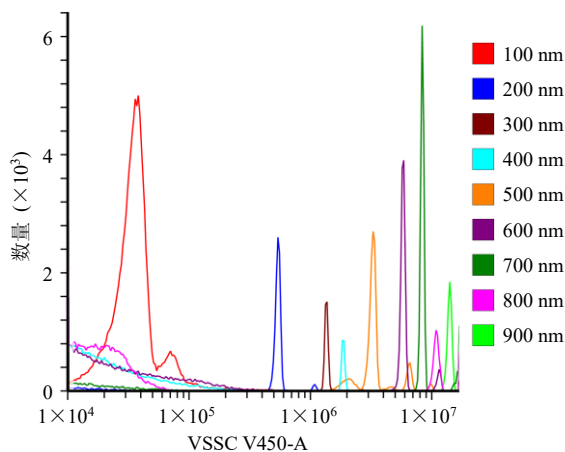


图3 标准化微球粒径分布叠加直方图

Fig. 3 Overlay histogram of particle size distribution of standardized microspheres

2.3.4 方法学考察

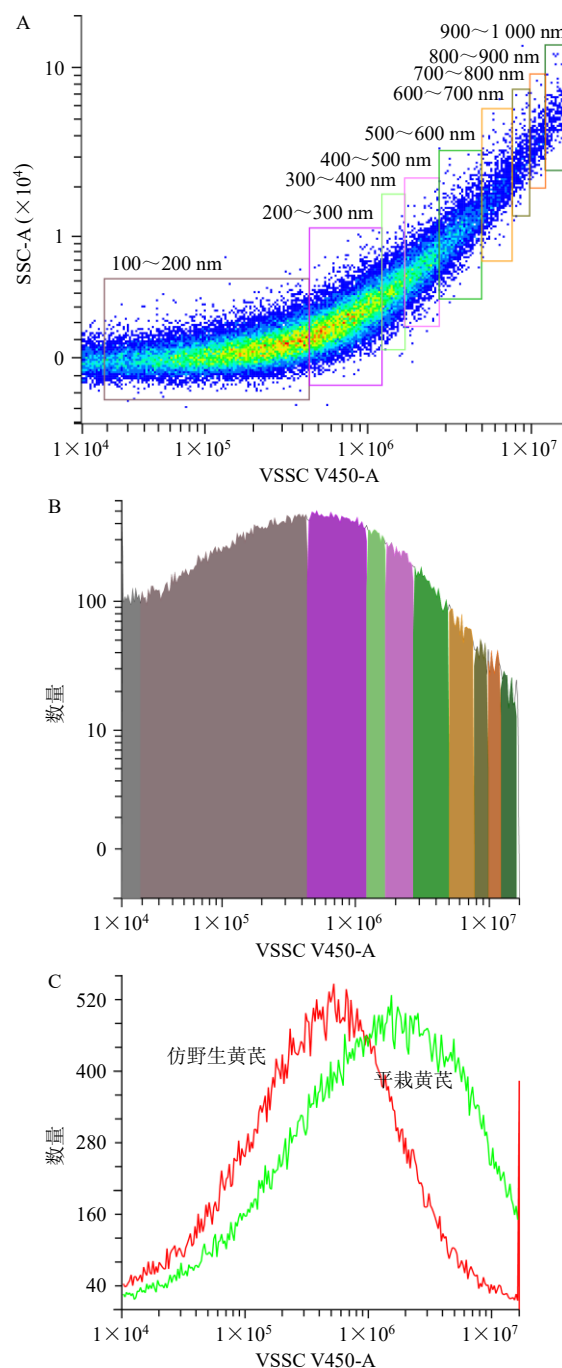
(1) 精密度实验:取样品 Y1 的供试品溶液,按照“2.3.3”项下仪器参数连续进样测定 6 次,记录 100~200、200~300、300~400、400~500、500~600、600~700、700~800、800~900、900~1 000 nm 9 个粒径区间颗粒数量占比,计算得各粒径区间颗粒数量占比的 RSD 值分别为 3.23%、7.24%、4.13%、3.91%、3.05%、2.31%、3.71%、3.77%、4.52%,均小于 10%,结果表明此仪器精密度良好。

(2) 重复性试验:取样品 Y1,依照“2.1”项下制备方法,平行制备 6 份黄芪标准汤剂后,分别依照“2.3.2”项下方法制备 6 份供试品溶液,分别进样测定后记录 6 份供试品溶液在上述 9 个粒径区间颗粒数量占比,计算得各粒径区间颗粒数量占比的 RSD 值分别为 5.06%、5.10%、3.78%、3.79%、4.22%、5.39%、6.90%、7.76%、11.16%,均小于 15%,结果表明该方法重复性良好。

(3) 稳定性试验:取样品 Y1 供试品溶液,分别在室温(25℃)下放置 0、1、2、4 h 后,分别进样测定,记录上述 9 个粒径区间颗粒数量占比,计算得各粒径区间颗粒数量占比的 RSD 值分别为 6.21%、4.86%、5.88%、6.75%、6.22%、5.57%、2.90%、

4.81%、14.16%、均小于 15%,结果表明供试品溶液在 4 h 内稳定性良好。

2.3.5 黄芪标准汤剂粒径检测 将“2.3.2”项下制备所得的供试品溶液,按照“2.3.3”项下仪器参数进样检测,得到检测图谱(图4),以及上述 9 个粒径区间颗粒数量占比,结果见表 12,黄芪标准汤剂



A、B-仿野生黄芪散点图和直方图; C-仿野生、平栽黄芪叠加直方图。
A, B-scatter plot and histogram of wild-simulated AR; C-overlay histogram of wild-simulated and transplanted AR.

图4 流式细胞仪黄芪样本检测结果

Fig. 4 Detection results of AR samples by flow cytometer

表 12 22 批黄芪标准汤剂粒径区间颗粒数量占比分布

Table 12 Distribution table of particle count percentages in particle size intervals for 22 batches of standard decoction of AR

样品	粒径区间颗粒数量占比/%										样品	粒径区间颗粒数量占比/%									
	100~	200~	300~	400~	500~	600~	700~	800~	900~	1 000~		100~	200~	300~	400~	500~	600~	700~	800~	900~	1 000~
	200	300	400	500	600	700	800	900	1 000			200	300	400	500	600	700	800	900	1 000	
	nm	nm	nm	nm	nm	nm	nm	nm	nm	nm		nm	nm	nm	nm	nm	nm	nm	nm	nm	nm
F1	20.72	13.40	3.92	5.34	5.03	2.41	1.29	0.76	1.09		Y2	27.76	15.62	5.27	7.58	7.75	3.88	1.70	0.91	0.97	
F2	31.43	7.53	1.94	2.67	2.75	1.67	1.00	0.77	1.19		Y3	13.48	11.23	4.41	6.95	8.44	5.08	2.83	1.86	2.61	
F3	37.64	10.57	2.46	2.61	2.05	0.80	0.36	0.21	0.25		Y4	26.19	17.11	5.21	6.55	5.04	1.80	0.66	0.32	0.37	
F4	35.48	11.84	2.99	3.54	2.89	1.17	0.50	0.28	0.36		Y5	18.31	12.44	4.60	7.04	8.31	4.87	2.63	1.69	2.20	
F5	35.21	11.33	2.32	2.32	1.77	0.89	0.50	0.29	0.39		Y6	23.37	14.33	4.96	7.27	7.96	4.39	2.20	1.37	1.64	
F6	43.49	11.63	1.78	1.55	0.96	0.37	0.15	0.09	0.11		Y7	16.81	12.50	4.76	7.57	8.83	5.30	2.67	1.55	2.00	
F7	30.03	15.73	3.95	4.37	3.01	1.06	0.40	0.25	0.27		Y8	34.15	16.66	4.49	5.17	3.33	0.91	0.31	0.16	0.17	
F8	36.50	12.83	2.81	2.90	1.89	0.75	0.32	0.17	0.20		Y9	20.46	14.64	5.07	7.19	7.00	3.39	1.56	0.89	1.03	
F9	37.37	9.81	2.21	2.36	1.75	0.68	0.30	0.16	0.19		Y10	22.65	13.84	4.70	6.79	7.75	4.23	2.19	1.39	1.93	
F10	34.85	13.96	3.18	3.37	2.52	1.10	0.55	0.33	0.40		Y11	13.37	13.70	6.53	7.54	10.25	6.07	3.36	1.88	2.09	
R-F2	34.27	11.86	2.76	3.10	2.46	1.09	0.54	0.33	0.45		Y12	14.88	13.52	6.49	7.43	10.80	7.13	4.14	2.47	3.34	
Y1	12.39	11.79	4.89	8.33	10.75	6.55	3.65	2.37	3.36		R-Y2	20.32	13.95	5.12	7.12	8.02	4.47	2.33	1.41	1.81	

100~200 nm 颗粒数量占比最大（10%~45%），200~300 nm 次之，其余区间颗粒数量占比较小。

2.3.6 黄芪标准汤剂粒径指纹图谱的构建 与物理指纹图谱相同，采用雷达图将测得的 22 批黄芪标准汤剂各粒径区间的颗粒数量占比连接起来，构成不规则的九边形，即黄芪标准汤剂的粒径指纹图谱（图 5-A）。以 10 批仿野生与 12 批平栽黄芪标准汤剂粒径区间百分比的平均值（R-F2、R-Y2）所构成的不规则九边形为对照粒径指纹图谱（图 5-B），构建的粒径指纹图谱可表现仿野生与平栽黄芪标准汤剂粒径分布的差异。

采用 Mann-Whitney U 检验进行显著性差异比较，发现仿野生黄芪在 100~200 nm 粒径区间数量占比显著高于平栽黄芪（ $P<0.001$ ），剩余 8 个粒径

区间（200~1 000 nm）平栽黄芪显著高于仿野生黄芪（ $P<0.05$ ）（表 13）。与物理指标相同粒径区间颗粒数量占比同样采用以“产地”为随机效应、以“种植方式”为固定效应的 LMM 分析剥离产地干扰，各变量显著性见表 14，各粒径区间颗粒数量占比 LMM 分析 $P<0.05$ ，说明其在种植方式上的显著差异未受到产地影响。

2.3.7 粒径指纹图谱的相似度评价 对 22 批黄芪标准汤剂粒径指纹图谱进行相似度评价，采用 SPSS 27 软件计算黄芪标准汤剂各批次间 Spearman 相关系数，结果如表 15~17，仿野生黄芪与平栽黄芪分别以其各粒径区间颗粒数量占比平均值（R-F2、R-Y2）为对照，得到 22 批黄芪标准汤剂的相似度，结果表明，仿野生黄芪与其对照粒径指纹图谱相比，

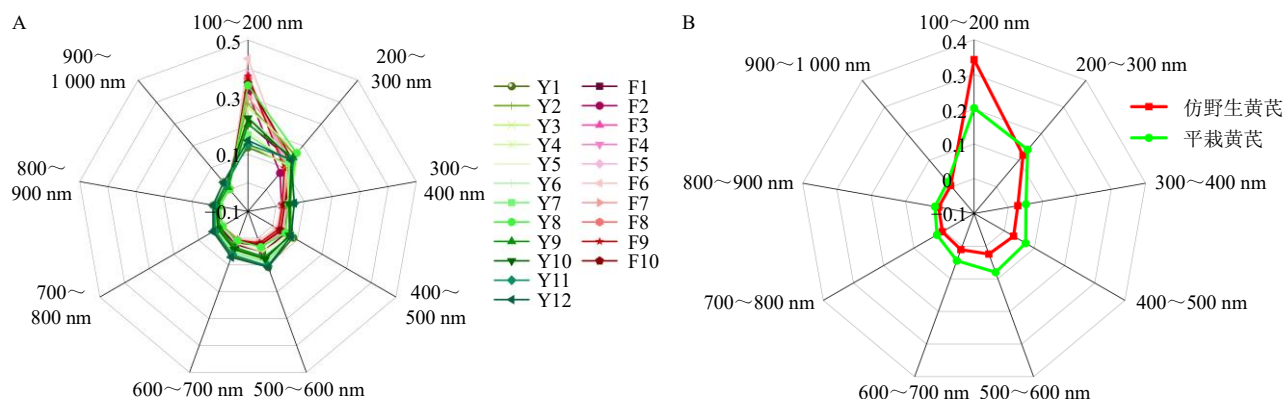


图 5 22 批黄芪标准汤剂叠加粒径指纹图谱 (A) 和仿野生与平栽黄芪标准汤剂的对照粒径指纹图谱 (B)

Fig. 5 Overlay particle size fingerprint of 22 batches of standard decoction of AR (A), and comparative particle size fingerprints of wild-simulated and transplanted AR standard decoction (B)

表 13 10 批仿野生与 12 批平栽黄芪标准汤剂粒径区间数量占比显著性差异比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 13 Comparison of significant differences in particle count percentages across particle size intervals between 10 batches of wild-simulated and 12 batches of transplanted standard decoction of AR ($\bar{x} \pm s$)

样品	n	粒径区间颗粒数量占比/%		
		100~200 nm	200~300 nm	300~400 nm
仿野生黄芪	10	34.27±5.99	11.86±2.30	2.76±0.76
平栽黄芪	12	20.32±6.74***	13.95±1.85*	5.12±0.70***
样品	n	粒径区间颗粒数量占比/%		
		400~500 nm	500~600 nm	600~700 nm
仿野生黄芪	10	3.10±1.10	2.46±1.10	1.09±0.58
平栽黄芪	12	7.12±0.77***	8.02±2.20***	4.47±1.82***
样品	n	粒径区间颗粒数量占比/%		
		700~800 nm	800~900 nm	900~1 000 nm
仿野生黄芪	10	0.54±0.35	0.33±0.24	0.45±0.38
平栽黄芪	12	2.33±1.15***	1.41±0.73***	1.81±1.03**

与仿野生黄芪比较: * $P<0.05$ ** $P<0.01$ *** $P<0.001$ 。

* $P<0.05$ ** $P<0.01$ *** $P<0.001$ vs wild-simulated AR.

表 14 粒径区间颗粒数量占比 LMM 分析结果

Table 14 LMM analysis results of particle count percentages in particle size intervals

粒径区间	P值	物理指标	P值	物理指标	P值
100~200 nm	0.001	400~500 nm	0.001	700~800 nm	0.001
200~300 nm	0.028	500~600 nm	0.001	800~900 nm	0.001
300~400 nm	0.001	600~700 nm	0.001	900~1 000 nm	0.002

表 15 10 批仿野生黄芪标准汤剂粒径区间的相似度评价

Table 15 Similarity evaluation of particle count percentages across particle size intervals for 10 batches of wild-simulated AR

样品	相似度										
	F1	F2	F3	F4	F5	F6	F7	F8	F9	F10	R-F2
F1	1.000										
F2	0.967	1.000									
F3	0.983	0.933	1.000								
F4	0.983	0.933	1.000	1.000							
F5	0.971	0.929	0.996	0.996	1.000						
F6	0.950	0.917	0.983	0.983	0.996	1.000					
F7	0.983	0.933	1.000	1.000	0.996	0.983	1.000				
F8	0.983	0.933	1.000	1.000	0.996	0.983	1.000	1.000			
F9	0.983	0.933	1.000	1.000	0.996	0.983	1.000	1.000	1.000		
F10	0.983	0.933	1.000	1.000	0.996	0.983	1.000	1.000	1.000	1.000	
R-F2	0.983	0.933	1.000	1.000	0.996	0.983	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000

平均相似度为 0.980,平栽黄芪平均相似度为 0.969,相似度均大于 0.9,表明不同批次间的黄芪标准煎液

表 16 12 批平栽黄芪标准汤剂粒径区间的相似度评价

Table 16 Similarity evaluation of particle count percentages across particle size intervals for 12 batches of transplanted AR

样品	相似度												
	Y1	Y2	Y3	Y4	Y5	Y6	Y7	Y8	Y9	Y10	Y11	Y12	R-Y2
Y1	1.000												
Y2	0.983	1.000											
Y3	1.000	0.983	1.000										
Y4	0.917	0.950	0.917	1.000									
Y5	1.000	0.983	1.000	0.917	1.000								
Y6	0.983	1.000	0.983	0.950	0.983	1.000							
Y7	1.000	0.983	1.000	0.917	1.000	0.983	1.000						
Y8	0.917	0.950	0.917	1.000	0.917	0.950	0.917	1.000					
Y9	0.967	0.983	0.967	0.983	0.967	0.983	0.967	0.983	1.000				
Y10	0.983	1.000	0.983	0.950	0.983	1.000	0.983	0.950	0.983	1.000			
Y11	0.967	0.983	0.967	0.933	0.967	0.983	0.967	0.933	0.967	0.983	1.000		
Y12	1.000	0.983	1.000	0.917	1.000	0.983	1.000	0.917	0.967	0.983	0.967	1.000	
R-Y2	0.983	1.000	0.983	0.950	0.983	1.000	0.983	0.950	0.983	1.000	0.983	0.983	1.000

表 17 22 批黄芪标准汤剂粒径区间颗粒数量占比的相似度评价

Table 17 Similarity evaluation of particle count percentages across particle size intervals for 22 batches of standard decoction of AR

编号	与R-F2相似度	编号	与R-F2相似度	编号	与R-Y2相似度	编号	与R-Y2相似度
F1	0.983	F7	1.000	Y1	0.983	Y7	0.983
F2	0.933	F8	1.000	Y2	1.000	Y8	0.950
F3	1.000	F9	1.000	Y3	0.983	Y9	0.983
F4	1.000	F10	1.000	Y4	0.950	Y10	1.000
F5	0.996			Y5	0.983	Y11	0.983
F6	0.983			Y6	1.000	Y12	0.983

粒径分布相似,说明批次间质量一致。

2.3.8 粒径指纹图谱的 PCA 与层次聚类分析(hierarchical cluster analysis, HCA) 使用 SPSS 27 软件进行 KMO 和巴特利特检验,结果(表 18)表明, $KMO>0.5$,巴特利特检验 <0.05 ,可进行 PCA。Hotelling's T^2 和 DModX 控制图(图 6-A~D)显示,

表 18 KMO 和巴特利特球形度检验

Table 18 KMO measure and Bartlett's test of sphericity

KMO和巴特利特检验		
KMO取样适切性量数		0.772
巴特利特球形度检验	近似卡方	559.657
	自由度	36
	显著性	<0.05

22 批黄芪标准汤剂均在 Hotelling's T^2 和 DModX 的警戒限内;从得分图中可以看出,仿野生黄芪与平栽黄芪能够明显分离(图 6-E)。用 SPSS 27 软件进行 HCA 得到 HCA 图(图 6-I),当平均欧氏距离为 10 时,除 F1、Y8 样本外,其余样本可以分为 2 类,说明所建立的粒径指纹图谱能够用于区分仿野生黄芪和平栽黄芪。

为筛选特征粒径区间,建立了 PLS-DA 模型,得分图(图 6-F)显示,仿野生与平栽黄芪呈明显分离趋势,2 组样本分别聚集且无重叠;经 200 次置换检验验证(图 6-G), Q^2 回归线在 Y 轴的截距交于负半轴,表明模型不存在过拟合,具有良好的预测能力;进一步通过 VIP 值筛选差异粒径区间(图 6-H),以 $VIP > 1.0$ 为标准,共识别出 100~200、500~600、400~500 nm 3 个对分组贡献最大的区间。

2.3.9 黄芪标准汤剂特征粒径区间的筛选 为了进一步研究黄芪标准汤剂的差异粒径区间,采用随机森林算法构建基于粒径区间数量占比的分类模型,以区分仿野生与平栽黄芪。将 22 批黄芪粒径区间颗粒数量占比数据用 mlr3 R 包进行分析;并提取贡献最大的前 3 个粒径区间,采用 Graphpad Prism 软件进行受试者操作特征(receiver operating characteristic, ROC)曲线,分别评估单一模型的预测效能,以及多个因素联合后的预测效能。

从结果中可以发现,RF 分类模型在训练集上实现了分类,通过特征重要性分析(表 19),筛选出 300~400、400~500、500~600 nm 这 3 个粒径区间。综合 PLS-DA 和随机森林 2 种多变量统计模型的筛选结果,粒径范围 400~500、500~600 nm 在 2 个模型中均稳定排名前 3,因此进一步在 Graphpad Prism 软件上对 400~500、500~600 nm 2 个粒径区间进行 ROC 曲线分析,曲线下面积(area under curve, AUC)均为 0.991 7 (> 0.9)(图 7-A、B),双因素联合后 $AUC = 0.850 0$ (图 7-C),说明模型预测能力良好,可以用于区分 2 种不同品规的黄芪。

接着,为验证模型是否过拟合,采用独立的 7 批仿野生黄芪(F11~F17)与 6 批平栽黄芪样本(Y13~Y18)进行双因素 ROC 曲线分析(图 7-D), $AUC = 0.809 5$ (> 0.8),说明验证集双因素联合预测分析能力良好,可以对 2 种品规黄芪进行良好区分,因此初步确定 400~500 nm、500~600 nm 2 个粒径区间是区分仿野生与平栽黄芪的潜在特征粒径区间。

2.4 物理指标与化学成分相关性分析

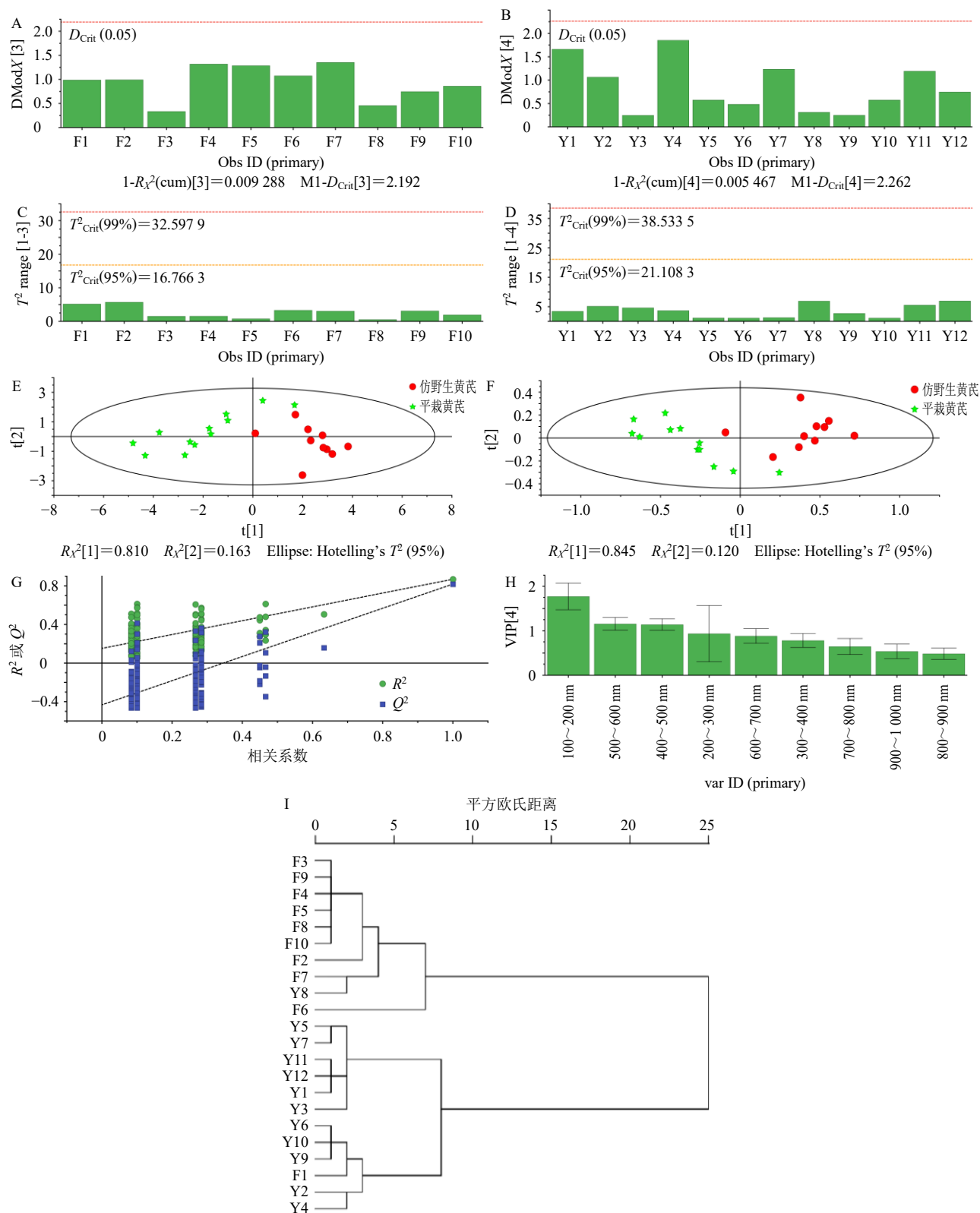
课题组前期已对本研究中涉及的 F1~F8、Y1~Y5 这 13 批黄芪进行了 11 种化合物的绝对定量分析^[19],进一步将 8 个物理指标与 11 种化学成分相关性分析(图 8): ζ 电位与芒柄花苷、黄芪皂苷 II、芒柄花素、黄芪紫檀烷 4 个化合物呈负相关($r < -0.40$),其中乙酰化修饰的黄芪皂苷 II 对汤剂中纳米颗粒表面负电荷的影响最为突出。同时这 4 种成分均和 PDI 呈较强负相关($r < -0.60$)。

3 讨论

3.1 不同品规黄芪标准汤剂的物理化学指标分析

中药在煎煮过程中,其物理化学指标与中药的成分、药效之间存在着必然联系^[20],这为寻找中药质量标志物(quality marker, Q-Marker)^[21-22]提供了新思路。基于这一理念,本研究选择电导率、TDS、盐度、电阻率、pH 值、 ζ 电位、PDI、Z 均值 8 个物理化学指标构建黄芪标准汤剂的物理指纹图谱,更全面地对黄芪标准汤剂进行评价,发现 Z 均值以及 ζ 电位在 2 种品规的黄芪中具有显著性差异。

ζ 电位是胶体颗粒表面电荷的直接体现,受“颗粒本身性质”和“液体环境”双重影响。本研究发现,不同品规黄芪标准汤剂的 ζ 电位存在显著差异,可能是由于黄芪水煎液属于多相体系,存在大量的聚集体。课题组前期已证实,种植方式显著影响黄芪中次级代谢产物的积累^[23],仿野生黄芪中黄酮类(如毛蕊异黄酮葡萄糖苷)、皂苷类(如黄芪皂苷 I、黄芪皂苷 III)含量相对高于平栽黄芪^[19,24]。因此,推测种植方式不同导致的黄酮、皂苷等含量差异,导致水煎液中所形成的聚集体不同,改变了水煎液的离子强度和胶体表面电荷密度。Zhang 等^[25]对黄芪中分子自组装行为进行了研究,推测黄芪水煎液中纳米粒的自组装是由多糖作为骨架、蛋白质形成疏水核心、小分子化合物(黄酮/皂苷)通过氢键和疏水作用吸附的复合体系。该自组装体为本研究探讨成分与 ζ 电位的关系提供了结构基础。并且本研究发现 ζ 电位与芒柄花苷、黄芪皂苷 II、芒柄花素、黄芪紫檀烷 4 个化合物呈负相关,推测是由于这 4 个化合物带有可解离的酚羟基与糖链羟基,属于两亲性分子,能够吸附在纳米胶体颗粒表面,随着成分含量升高,颗粒表面负电荷负载增加, ζ 电位负值增大。同时这 4 种成分均和 PDI 呈较强负相关,说明黄酮、皂苷的吸附能够改善胶体分散性、降低颗粒多分散指数,抑制纳米颗粒团聚。



A、B-仿野生与平栽黄芪粒径区间 DModX 控制图；C、D-仿野生与平栽黄芪粒径区间 Hotelling's T^2 控制图；E-PCA 得分图；F-PLS-DA 得分图；G-置信检验图；H-VIP 图；I-HCA 图。

A, B-DModX control charts for particle size intervals of wild-simulated and transplanted AR; C, D-Hotelling's T^2 control charts for particle size intervals of wild-simulated and transplanted AR; E-PCA score plot; F-PLS-DA score plot; G-permutation test plot; H-VIP plot; I-HCA dendrogram.

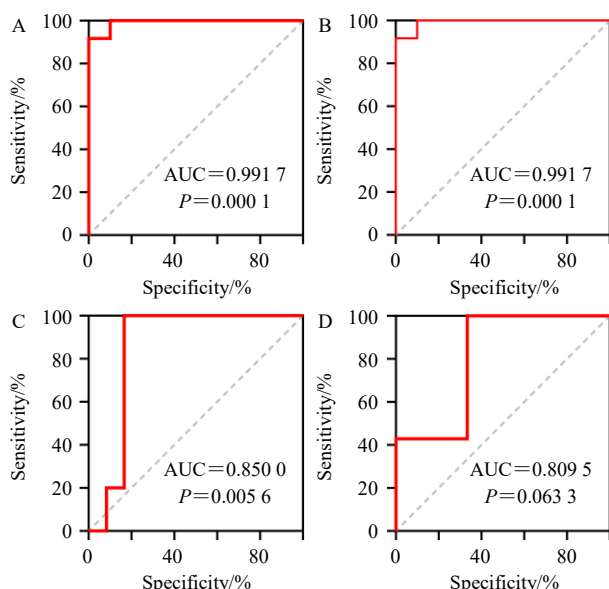
图 6 22 批黄芪标准汤剂的粒径区间的 PCA 与 HCA

Fig. 6 PCA and HCA of particle size intervals for 22 batches of standard decoction of AR

表 19 粒径区间重要性得分

Table 19 Importance score table for particle size intervals

粒径区间/nm	重要性得分	粒径区间/nm	重要性得分
300~400	0.131 93	600~700	0.014 42
400~500	0.078 19	100~200	0.012 04
500~600	0.069 85	900~1 000	0.001 86
700~800	0.022 11	200~300	0.000 17
800~900	0.016 49		



A、B-400~500、500~600 nm 单因素 ROC 曲线图；C-训练集双因素 ROC 曲线图；D-验证集双因素 ROC 曲线图。
A, B-univariate ROC curves for 400—500, 500—600 nm; C-two-factor ROC curve plot for the training set; D-two-factor ROC curve plot for the test set.

图 7 随机森林分析及 ROC 曲线

Fig. 7 Random forest analysis and ROC curves

相态的稳定性与 ζ 电位息息相关，相态体系内部粒子分散越均匀， ζ 电位绝对值越大，相态中粒子间斥力越大，相态体系则越稳定^[26-27]。本研究初步发现平栽黄芪 ζ 电位绝对值大于仿野生黄芪，说明其粒子更分散，体系相对更稳定。然而，药效研究却发现，仿野生黄芪在改善心衰大鼠心功能方面显著优于平栽黄芪^[28]；仿野生黄芪配伍的当归补血汤比平栽黄芪配伍的当归补血汤改善复合血虚模型小鼠的效果要好^[29]。这提示，生物活性与相态稳定性并非简单的正相关关系，需结合活性成分含量、活性聚集体结构等综合分析。

而 Z 均值与各化合物整体相关性很弱，仅黄芪皂苷 I、IV 随粒径增大轻微下降，芒柄花苷、芒柄花素随粒径增大而小幅上升，但整体相关性不大，推测可能由于中药多分散体系极复杂，整体的 Z 均

值与成分的关联性未显现，后续应按照粒径范围对黄芪水煎液进行划分，或分离出活性聚集体，进一步进行化学成分与相关性分析。

电导率表示物质传导电流的能力。对于溶液而言，它取决于溶液中可移动离子（如钠离子、钾离子、氯离子等）的浓度、种类和温度；TDS 指水中所有以分子或离子形式存在的固体物质的总量。盐度主要特指溶液体系无机盐类（如氯化钠）的浓度。在中药汤剂中，“盐度”虽然没有 TDS 和电导率应用广泛，但也有其特殊意义。它不仅可以反映汤剂中的电解质水平，还与味觉感知相关。例如，枳实薤白桂枝汤的研究发现^[15]，盐度的感知与药材中桂皮醛、辛弗林等成分的含量存在较强的相关性。pH 值表示药液的酸碱性强弱，受药材本身特性和溶出的酸性或碱性成分的共同影响。不同药材的 pH 值差异可能成为其“身份标记”。例如，研究^[30]发现浙麦冬、川麦冬和山麦冬 3 种药材的汤剂，其 pH 值存在规律性差异，可作为区分它们的潜在标志物。但对于本研究来说，仿野生与平栽黄芪在上述物理化学指标中无明显差异，其差异表现在与中药汤剂多分散体系相关的 ζ 电位与粒径上，提示中药汤剂体系中的自组装聚集体对药材品规存在一定影响，因此，针对中药汤剂拆相检测指标——粒径，对黄芪的 2 种品规进行了进一步评价。

3.2 不同品规黄芪标准汤剂的粒径分析

Z 均值反映了中药水煎液整体的纳米尺寸，但是马尔文粒度仪仅能表征整体粒径分布、平均粒径，无法反映中药汤剂这种多分散体系中不同纳米尺寸下颗粒分布。而流式细胞仪可借助标准尺度微球，得到不同尺寸的粒径区间颗粒数量占比^[11]。因此本研究进一步采用流式细胞仪对黄芪标准汤剂纳米粒径区间颗粒数量占比深入分析，并进行了方法学考察，建立粒径指纹图谱，结果发现仿野生黄芪在 100~200 nm 粒径区间颗粒数量占比显著高于平栽黄芪，而 200~1 000 nm 平栽黄芪显著高于仿野生黄芪，此结果与马尔文粒度仪分析结果平栽黄芪粒径大于仿野生黄芪结果相符。并结合 PLS-DA 和随机森林 2 种多变量统计模型的筛选结果 400~500、500~600 nm 粒径区间在区分 2 种品规黄芪上有较大贡献，并且模型预测能力良好，初步表明，400~500、500~600 nm 粒径区间的黄芪标准汤剂中纳米颗粒的分布及大小可能为其潜在特征粒径区间。

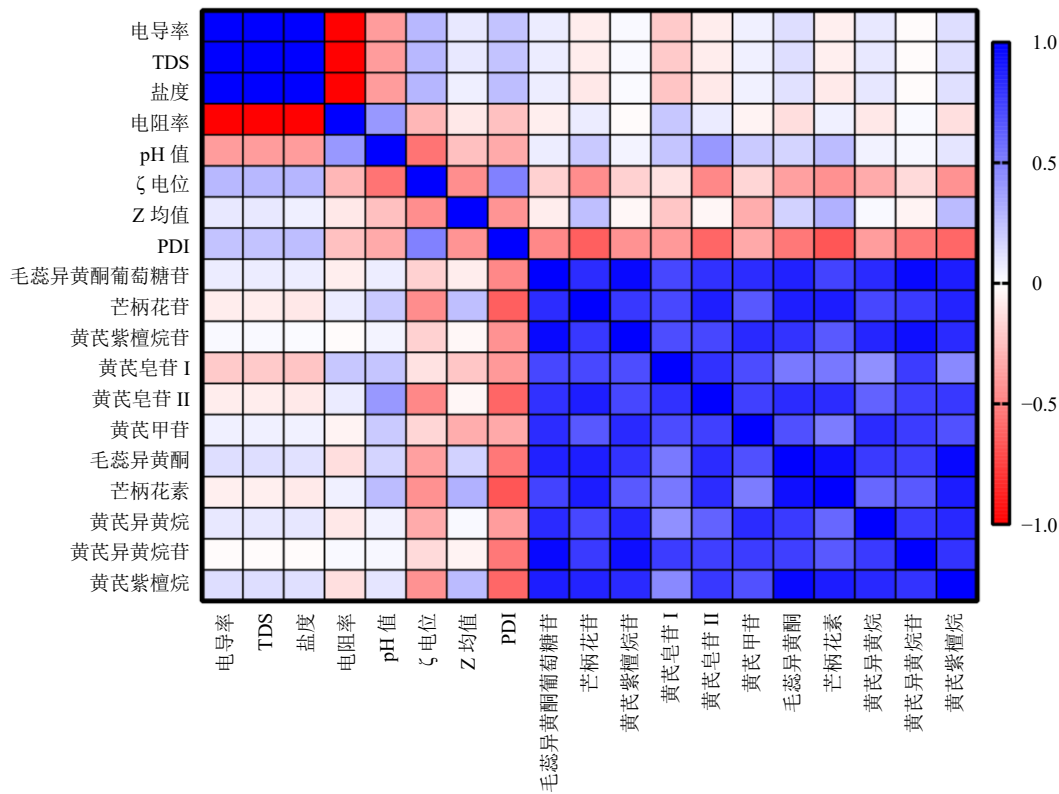


图 8 物理指标与化学成分相关性热图

Fig. 8 Correlation heatmap of physical indicators and chemical components

目前,已有研究对黄芪及其复方进行了有关纳米颗粒制备以及相态拆分相关物理化学表征以及药效研究。在抗肿瘤领域,提取自新鲜黄芪的外泌体样纳米颗粒(HELNs, 112 nm)^[31],可以下调前列腺癌细胞中GPX4蛋白表达诱导铁死亡,同时逆转肿瘤微环境中M2型巨噬细胞的极化方向,促使其向M1样表型转化,并增加肠道抗肿瘤益生菌丰度,实现“直接杀伤+免疫重塑+微生态调节”的多维度抗肿瘤效应。Zhang等^[25]通过超滤法从黄芪和蜜炙黄芪水煎液分别提取了生黄芪水煎液纳米颗粒(ARD-NP, 245.23 nm)与蜜炙黄芪水煎液纳米颗粒(HARD-NP, 175.43 nm),能显著提高脾脏指数、改善动脉血气指标、恢复肺功能,并有效抑制肺部肿瘤生长,减轻肺组织病理损伤。课题组前期也对含黄芪的复方——防己黄芪汤^[9]进行了相态拆分并对拆分后各相态进行了理化表征并针对脾虚水肿小鼠模型进行了药效研究,发现拆分后的真溶液相、胶体相、混悬相和沉淀相4个相态对模型小鼠脾虚及肾功能指标上均有不同程度改善,并筛选出富含黄芪黄酮、防己碱等特征成分的沉淀相(5595 nm),是防己黄芪汤发挥药效的关键活性相态。上述研究虽粒径范围各异,但均表明黄芪汤剂的纳米

颗粒或聚集体是其发挥药效的重要存在形式。

本研究的局限性为未进行药效与物理化学指标的相关研究,后续应对不同粒径区间的黄芪汤剂进行相态拆分及药效研究,并与物理指标进行相关分析,从而筛选出Q-Marker指标。

3.3 物理参数成为中药 Q-Marker 的发展潜力

中药 Q-Marker 是刘昌孝院士^[21]于 2016 年提出的质量评价新概念,主张从“质量传递与溯源”“成分特有性”“有效性”“复方配伍环境”和“成分可测性”五个维度筛选与中药功能属性密切相关的标志性物质。ζ 电位和粒径区间等物理指标虽非传统意义上的化学 Q-Marker,但作为“药效物质基础物理存在状态”的表征参数,在上述 5 个维度上均能与 Q-Marker 理论形成呼应,可作为化学 Q-Marker 的补充。目前,黄芪 Q-Marker 相关研究表明^[32-33],黄芪甲苷、毛蕊异黄酮葡萄糖苷、芒柄花苷及黄芪多糖等成分是黄芪 Q-Marker 的重要候选成分,其原因在于这些成分具备黄芪药材的特有性、明确的有效性以及可测性,并能在药材-饮片-提取物-制剂的质量传递过程中实现溯源,为 Q-Marker 核心五要素质量评价提供了理论框架。本研究中不同种植方式黄芪的 ζ 电位和粒径区间的差异,可能反映了

黄芪中黄芪多糖、蛋白质等大分子与皂苷、黄酮类小分子之间形成的聚集体组成不同,因此可将这些物理指标视为黄芪 Q-Marker 化学物质基础的“宏观物理表现”。

本研究中的 ζ 电位和粒径区间可作为上述化学成分在提取、浓缩、干燥、复溶等过程中组装状态是否一致的辅助判断指标。若化学含量相近而物理指标差异显著,提示不同批次或处理间可能存在聚集体组成不一致,单靠化学定量可能掩盖质量差异。黄芪在复方中常与白术、防风、当归、党参等药味配伍应用^[9,26,34],不同配伍环境以及煎煮条件下溶液的 pH 值、离子强度、其他药味释放的大分子成分等均可能改变汤剂的 ζ 电位和粒径分布,进而影响黄芪 Q-Marker 成分的溶出、吸附、聚集及吸收行为。本研究测得的差异性物理指标,可为后续在复方配伍环境中评价黄芪 Q-Marker 提供可量化的物理维度,有助于解释“组分-配伍环境-药效”之间的内在联系。 ζ 电位和粒径区间分别通过马尔文粒度仪以及流式细胞仪进行了快速测定,操作简便、重现性良好,具有作为质控辅助指标的可行性。

4 结论

本研究将多指标物理指纹图谱与基于流式细胞仪的粒径指纹图谱结合,从整体分散体系角度描述黄芪标准汤剂的批次一致性和品规差异。该方法与中药多成分、多靶点和多相态的特点相符合,从一个新视角补充传统化学指纹图谱和指标成分含量测定难以直接呈现的相态结构、表面电荷及粒径分布信息,对构建“化学组成-物理相态”协同的中药质量评价体系提供了研究基础。

但本研究存在样本量较小、种植方式与产地分布不完全平衡,粒径检测范围仅覆盖 100~1 000 nm 等局限。后续研究应开展同产地、同等级的配对比较,测定皂苷、黄酮、多糖等化学成分及抗炎、免疫调节等与黄芪功效相关的药效指标,建立“成分-粒径/ ζ 电位-药效”关联模型,阐明关键物理指标与药效指标及药效成分的相关性,为中药质量控制及 Q-Marker 的发现提供新的研究思路。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 杜国军. 恒山黄芪道地药材质量标准研究 [D]. 太原: 山西大学, 2013.
- [2] 中国药典 [S]. 一部. 2025: 323-325.
- [3] 赵晨光, 李存玉, 杨珊, 等. 基于道地产区蒙古黄芪的

质量差异性分析 [J]. 中国中药杂志, 2020, 45(13): 3183-3190.

- [4] 宋诗娟, 雷振宏, 郭旭, 等. 不同产地蒙古黄芪的非靶向代谢组学分析 [J]. 山西农业科学, 2024, 52(1): 43-54.
- [5] 李蓉蓉. 基于液质联用技术的恒山黄芪中特征成分研究 [D]. 太原: 山西大学, 2021.
- [6] 邵孟其, 朱亚苹, 刘玉鑫, 等. 基于物理、化学指纹图谱与多指标成分含量测定构建二妙散加减方标准煎液质量评价方法 [J]. 中国医院药学杂志, 2025, 45(12): 1377-1385.
- [7] 朱亚苹, 刘玉鑫, 邵孟其, 等. 基于物理、化学指纹图谱和多成分含量测定的加味六君子汤质量评价方法 [J]. 中国医院药学杂志, 2025, 45(12): 1349-1355.
- [8] 杨婉, 邹海英, 邱智东, 等. 基于物理指纹图谱与多指标成分定量测定构建升陷汤标准煎液质量评价方法 [J]. 中草药, 2023, 54(6): 1804-1813.
- [9] 苏贝贝, 卢凯, 张鑫渝, 等. 防己黄芪汤干预脾虚肾性水肿小鼠的药效评价及活性相态筛选 [J]. 中草药, 2025, 56(22): 8175-8187.
- [10] 武印奇, 吕邵娃, 李英鹏, 等. 白虎汤中纳米相态的分离与表征 [J]. 中华中医药学刊, 2021, 39(12): 121-124+286-289.
- [11] 曹丽, 秦桢楠, 刘毅杰, 等. 基于 Cytoflex 流式细胞仪的外泌体表征方法 [J]. 现代仪器与医疗, 2023, 29(3): 39-46.
- [12] 王东博, 赵曼佳, 代云桃, 等. 黄芪分析方法的优化和黄芪标准汤剂的质量评价 [J]. 中国中药杂志, 2020, 45(1): 119-123.
- [13] 马家骅, 谭承佳, 李霞, 等. 基于有效组分检测与理化表征相结合的当归补血汤制备工艺与质量控制研究 [J]. 中草药, 2012, 43(3): 482-486.
- [14] 梁悦, 刘涛, 蒋天宇, 等. 生脉注射液物理指纹图谱的建立及其质量评价 [J]. 中草药, 2018, 49(11): 2571-2576.
- [15] 李小美, 王雪松, 陶振, 等. 基于物理-化学-味觉多维信息融合的枳实薤白桂枝汤基准样品质量评价 [J]. 中草药, 2026, 57(6): 2075-2085.
- [16] 柳温曦. 中药牛黄及其代用品的真伪鉴别及牛黄药材及成药的质量控制方法研究 [D]. 北京: 中国食品药品检定研究院, 2019.
- [17] 杨双玲, 薛艳芳, 陈华师, 等. 指纹图谱分析石菖蒲及不同炮制品挥发性成分 [J]. 江西中医药大学学报, 2024, 36(4): 65-71.
- [18] 雷蓉, 周亚楠, 白洁, 等. 基于 UPLC 指纹图谱及化学模式识别分析的四季三黄片质量一致性评价 [J]. 中国现代中药, 2022, 24(10): 1988-1994.
- [19] 郭雅璇. 基于拟靶向代谢组学的恒山黄芪化学特征研

- 究 [D]. 太原: 山西大学, 2023.
- [20] 瞿钟欢, 杨艳君, 杨冰, 等. 基于“物相结构”特征的中药品质调控新视角 [J]. 中国中药杂志, 2025, 50(13): 3579-3588.
- [21] 刘昌孝, 陈士林, 肖小河, 等. 中药质量标志物 (Q-Marker): 中药产品质量控制的新概念 [J]. 中草药, 2016, 47(9): 1443-1457.
- [22] 中华中医药学会《中药质量标志物研究技术指南》编写组. 中药质量标志物研究技术指南 [J]. 中草药, 2025, 56(7): 2249-2252.
- [23] 曹庆伟, 杜鹃, 罗晋平, 等. 黄芪甲苷含量测定方法的优化及对不同产地、不同等级黄芪中黄芪甲苷含量分析 [J]. 中国中药杂志, 2019, 44(13): 2813-2819.
- [24] 杜国军, 秦雪梅, 李震宇, 等. 蒙古黄芪主产区 2 种不同种植模式黄芪药材的质量比较 [J]. 中草药, 2013, 44(23): 3386-3393.
- [25] Zhang W Y, Song J J, Su X, *et al.* The effects of honey processing on nanoparticles in *Astragali Radix* decoction: Self-assembly, bioavailability, and bioactivity [J]. *Food Res Int*, 2025, 218: 116877.
- [26] 王琴, 袁成业, 江勇, 等. 基于“汤剂相态-纳米组装”的气血双补方抗慢性心衰炮制增效机理研究 [J]. 中国医院药学杂志, 2023, 43(11): 1185-1190.
- [27] 吴文菲, 赵大地, 吕润泽, 等. 界面反应及生物炭添加对矿物胶体凝聚的影响 [J]. 西南大学学报: 自然科学版, 2025, 47(4): 180-192.
- [28] 高四云, 李科, 秦雪梅, 等. 基于绝对生长年限野生与移栽黄芪质量比较研究 [J]. 中草药, 2018, 49(10): 2248-2257.
- [29] 李鑫琦. 仿野生与平栽黄芪配伍的当归补血汤药效与配伍的机制比较研究 [D]. 太原: 山西大学, 2020.
- [30] 张鹏, 邬兰, 李西文, 等. 麦冬和山麦冬饮片标准汤剂比较研究 [J]. 中国中药杂志, 2019, 44(21): 4612-4620.
- [31] An Y, Xu J Z, Ye G C, *et al.* Therapeutic translation of traditional Chinese medicine Huangqi derived exosome like nanoparticles: Targeting prostate cancer through ferroptosis activation, immune reprogramming, and microbiome modulation [J]. *J Nanobiotechnol*, 2026, 24(1): 447.
- [32] 李杨, 王震, 马伟. 黄芪化学成分和药理作用研究进展及其质量标志物预测分析 [J]. 中医药信息, 2026, 43(5): 79-89.
- [33] 王七龙, 井亚江, 黄建萍, 等. 基于指纹图谱、网络药理学预测黄芪“补气升阳”功效的质量标志物 [J]. 中南药学, 2024, 22(6): 1550-1557.
- [34] 高湘婷, 贺鹏, 谯茹, 等. 补阳还五汤煎煮过程 2 种相态与成分变化关系研究 [J]. 中草药, 2025, 56(22): 8113-8125.

[责任编辑 郑礼胜]