

DOI: 10.19812/j.cnki.jfsq11-5956/ts.20240923008

引用格式: 赵瑛瑛, 王若昱, 武开智, 等. 基于超高效液相色谱-电喷雾检测器构建恒山黄芪指纹图谱并鉴别其产地[J]. 食品安全质量检测学报, 2025, 16(8): 244-252.

ZHAO YY, WANG RY, WU KZ, *et al.* Construction of Hengshan *Astragalus* fingerprint and identification of its origin based on ultra performance liquid chromatography-charged aerosol detector [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2025, 16(8): 244-252. (in Chinese with English abstract).

基于超高效液相色谱-电喷雾检测器构建恒山 黄芪指纹图谱并鉴别其产地

赵瑛瑛¹, 王若昱^{2,3}, 武开智¹, 连云岚², 詹志来⁴, 丁保朋⁵, 杨丽婷¹,
张文翠¹, 赵晓琴¹, 杜娟^{2*}

(1. 大同市综合检验检测中心, 大同 037000; 2. 山西省检验检测中心, 太原 030031;
3. 山西中医药大学中药与食品工程学院, 晋中 030619; 4. 中国中医科学院中药资源中心, 北京 100700;
5. 山西大同大学煤基生态碳汇技术教育部工程研究中心, 大同 037009)

摘要: **目的** 基于超高效液相色谱-电喷雾检测器(ultra performance liquid chromatography-charged aerosol detector, UPLC-CAD)技术构建不同产地黄芪所含成分的指纹图谱, 并对其进行对比分析, 实现不同产地黄芪的质量评价与产地鉴别。**方法** 采用 UPLC-CAD 技术, 聚焦于黄酮类与皂苷类成分, 选取 29 批多个产地的样本绘制恒山山脉仿野生黄芪指纹图谱。运用聚类分析、主成分分析(principal component analysis, PCA)及正交偏小二判别分析(orthogonal partial least squares discriminant analysis, OPLS-DA)等统计方法分析评价。**结果** 指纹图谱成功标记出 26 个共有峰, 鉴定出包括沙苑子苷 A、芒柄花苷、黄芪皂苷 I 至 IV 等在内的 8 个关键特征峰。聚类分析清晰地将样本分为两大类, 揭示了地域差异对黄芪质量的影响。PCA 进一步提炼出 7 个主成分。OPLS-DA 分析则精准预测了影响黄芪质量差异的 8 种关键化合物, 这些差异性化合物与产地、栽培方式及生长年限紧密相关。**结论** 本研究综合应用 UPLC-CAD 技术与多元化学计量学分析手段, 成功构建了能够区分不同基原、产地及栽培方式的黄芪指纹图谱, 可对黄芪(恒山山脉仿野生)进行指纹图谱相似度评价, 专属性强, 灵敏度高, 为恒山山脉仿野生黄芪的质量评价提供了科学依据。

关键词: 恒山黄芪; 超高效液相色谱法; 电喷雾检测器; 指纹图谱; 化学计量学分析

Construction of Hengshan *Astragalus* fingerprint and identification of its origin based on ultra performance liquid chromatography-charged aerosol detector

ZHAO Ying-Ying¹, WANG Ruo-Yu^{2,3}, WU Kai-Zhi¹, LIAN Yun-Lan², ZHAN Zhi-Lai⁴,
DING Bao-Peng⁵, YANG Li-Ting¹, ZHANG Wen-Cui¹, ZHAO Xiao-Qin¹, DU Juan^{2*}

收稿日期: 2024-09-23

基金项目: 大同市重点研发计划项目(2022022)

第一作者: 赵瑛瑛(1985—), 女, 硕士, 高级工程师, 主要研究方向为食品、中药、农产品等相关领域质量安全检测。E-mail: 458692659@qq.com

*通信作者: 杜娟(1984—), 女, 硕士, 工程师, 主要研究方向为中药安全检测。E-mail: 343849171@qq.com

(1. Datong Comprehensive Inspection and Testing Center, Datong 037000, China; 2. Shanxi Inspection and Testing Center, Taiyuan 030031, China; 3. Shanxi University of Chinese Medicine College of Traditional Chinese Medicine and Food Engineering, Jinzhong 030619, China; 4. Chinese Medicine Resource Center, China Academy of Chinese Medicine Sciences, Beijing 100700, China; 5. Engineering Research Center of Coal-based Ecological Carbon Sequestration Technology of the Ministry of Education and Key Laboratory of National Forest, Shanxi Datong University, Datong 037009, China)

ABSTRACT: Objective To construct and compare the fingerprint profiles of *Astragalus* samples from different origins based on ultra performance liquid chromatography-charged aerosol detector (UPLC-CAD) technology, achieve quality evaluation and origin identification of *Astragalus*. **Methods** Using UPLC-CAD technology, this study focused on flavonoid and saponin components to construct the fingerprint of wild-simulated *Astragalus membranaceus* from the Hengshan Mountains, based on 29 batches of samples collected from multiple geographical origins. Statistical analysis methods such as cluster analysis, principal component analysis (PCA), and orthogonal partial least squares discriminant analysis (OPLS-DA) were used for analysis and evaluation. **Results** The fingerprint successfully marked 26 common peaks, and 8 key characteristic peaks were identified, including complanatoside A, ononin, astragaloside I to IV, etc. Cluster analysis clearly divided the samples into two major categories, revealing the influence of regional differences on the quality of *Astragalus membranaceus*. PCA further extracted 7 principal components. OPLS-DA analysis accurately predicted 8 kinds of key compounds influencing the quality differences, which were closely related to origin, cultivation methods, and growth duration. **Conclusion** This study successfully constructed a fingerprint capable of distinguishing *Astragalus* based on its origin, cultivation methods, and growth conditions by integrating UPLC-CAD technology with multivariate chemometric analysis. This method can be used to evaluate the fingerprint similarity of *Astragalus membranaceus* (Hengshan Mountain wild-simulated), with high specificity and sensitivity, which provides a scientific basis for the quality assessment of wild-simulated *Astragalus* from the Hengshan Mountains.

KEY WORDS: Hengshan *Astragalus*; ultra performance liquid chromatography; charged aerosol detector; fingerprint; stoichiometric analysis

0 引言

《中国药典》2020年版一部中,黄芪来源为豆科植物蒙古黄芪或膜荚黄芪的干燥根。具有补气升阳,固表止汗,利水消肿,生津养血,行滞通痹,托毒排脓,敛疮生肌的作用^[1]。现代药理学研究表明,黄芪具有抗衰老^[2-4]、抗肿瘤^[5-7]、免疫调节^[8-9]、降糖调脂^[10-12]、抗纤维化^[13-16]等多种药理作用。黄芪不仅有着悠久的药用历史,目前在人们的日常生活中也应用广泛。2023年国家卫生健康委员会、国家市场监督管理总局将其纳入《按照传统既是食品又是中药材的物质目录》^[17]。自宋代以来医家普遍认同山西、内蒙所产绵黄芪品质最佳^[18],而久负盛名的黄芪(恒山山脉仿野生)曾作为进献朝廷的直贡药材“贡品”,来源于蒙古黄芪^[19]。2014年4月16日,国家质量监督检验检疫总局批准“恒山黄芪”实施地理标志产品保护^[20],因此有必要对恒山黄芪质量特性进行研究。

目前黄芪的有效成分研究主要集中于以毛蕊异黄酮葡萄糖苷为代表的黄酮类成分^[21-22]和以黄芪甲苷等为代表的皂苷类成分^[23-24],但黄酮类成分多具有紫外吸收而皂苷类成分为末端吸收,无法做到同时对两种成分的同时评价与研究。随着现代检测技术的发展,电喷雾检测

器(charged aerosol detector, CAD)^[25]作为一种高灵敏度的通用性检测器,具备同时检测具有强紫外吸收特性的黄酮类成分和不具备紫外吸收特性的皂苷类成分的技术优势^[26-27]。目前多采用高效液相色谱法、液相色谱-质谱法等方法,分别建立黄芪指纹图谱,但皂苷类成分很难达到理想的响应和检测^[28-30]。鉴于此,本研究通过超高效液相色谱-CAD (ultra performance liquid chromatography-CAD, UPLC-CAD)技术同时对黄芪中两大类有效成分进行分析,建立(恒山山脉仿野生)的指纹图谱,通过现代分析和检测技术,对黄芪中的化学信息以图形(图像)方式进行表征,从中提取有用的信息,并结合化学计量学手段评估分析黄芪(恒山山脉仿野生)与其他产地以及不同栽培方式黄芪的质量差异,以期为恒山黄芪的质量评价提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 仪器与设备

Vanquish 系列超高效液相色谱仪、Thermo Hypersil GOLDTMVANQUISH 色谱柱(2.1 mm×100 mm, 1.9 μm)(美国赛默飞世尔科技公司); LC-350A 超声清洗机(山东济宁鲁超声设备有限公司); HH-6 单列六孔电热恒温水浴锅(金坛区白塔新宝仪器厂); MS204S 电子分析天平(精度

0.1 mg)、MS105DU 电子分析天平(精度 0.01 mg)(瑞士 Mettler Toledo 公司)。

1.2 试剂与材料

黄芪皂苷I(批号: 230225, 纯度 \geq 98%)、黄芪皂苷II(批号: 230206, 纯度 \geq 98%)、黄芪皂苷III(批号: 230112, 纯度 \geq 98%)、黄芪皂苷IV(批号: 202219, 纯度 \geq 98%)、沙苑子苷(批号: 221117, 纯度 \geq 98%)、芒柄花苷(批号: 220914, 纯度 \geq 98%)、新芒柄花素(批号: 221014, 纯度 \geq 98%)、毛蕊异黄酮葡萄糖苷(批号: 202308, 纯度 \geq 96.9%)(伟业计量-国家标准物质研究中心); 乙腈、甲醇(色谱纯, 德国默克集团公司); 甲醇、氨水(分析纯, 国药集团化学试剂有限公司); 纯化水(超纯水, 默克 Milli-Q® IQ 7000 水纯化系统)。

研究用黄芪样品均从产地收集, 其中黄芪(恒山山脉仿野生)15 批, 黄芪(陕西子洲仿野生)3 批, 膜荚黄芪 5 批, 黄芪(内蒙、甘肃栽培的蒙古黄芪)6 批。均经山西省检验检测中心连云岚主任药师鉴定为豆科植物蒙古黄芪或膜荚黄芪的干燥根。样品信息见表 1。

1.3 实验方法

1.3.1 标准品溶液的制备

分别精密称取黄芪皂苷I、II、III、IV, 沙苑子苷 A, 芒柄花苷, 新芒柄花素及毛蕊异黄酮葡萄糖苷标准品适量, 加 80%甲醇分别制成 20 μ g/mL 的标准品溶液, 即得。

1.3.2 供试品溶液的制备

提取溶剂研究: 取本品粉末(过四号筛)约 1 g, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 分别精密加入①甲醇; ②80%甲醇溶液; ③含 4%氨水的 80%甲醇溶液^[31]50 mL, 密塞, 称定重量, 加热回流^[32]1 h, 放冷, 再称定重量, 用 80%甲醇溶液补足减失的重量, 摇匀, 滤过, 取续滤液, 即得。

提取方法研究: 取本品粉末(过四号筛)约 1 g, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 精密加入 80%甲醇溶液 50 mL, 密塞, 称定重量, 加热回流 1 h 或超声提取(250 W, 33 kHz) 1 h, 放冷, 再称定重量, 用 80%甲醇溶液补足减失的重量, 摇匀, 滤过, 取续滤液, 即得。

1.3.3 色谱条件

色谱柱: Thermo Hypersil GOLD™VANQUISH (2.1 mm \times 100 mm, 1.9 μ m); 以 0.2%甲酸水溶液为流动相 A, 以乙腈为流动相 B, 进行梯度洗脱: 0~15 min, 15%~20% B; 15~25 min, 20%~25% B; 25~30 min, 25% B; 30~40 min, 25%~37% B; 40~50 min, 37% B; 50~55 min, 37%~46% B; 流速: 0.3 mL/min; 柱温: 30 $^{\circ}$ C; 电喷雾式检测器检测, 雾化温度为 35 $^{\circ}$ C, 数据采集频率为 10 Hz, 过滤常数(F)为 1.0 (S)。理论板数按黄芪甲苷 IV 峰计, 均不得低于 10000。进样量为 2 μ L。

1.3.4 指纹图谱的构建

运用“中药色谱指纹图谱相似度评价系统”2.0 版本, 以 15 批次黄芪(恒山山脉仿野生)为原始图谱进行多点校正, 自动化匹配等构建黄芪(恒山山脉仿野生)指纹图谱。

表 1 样品信息列表

Table 1 List of sample informations

编号	基原	样品名称	生长年限/年	产地
S1	蒙古黄芪	黄芪(恒山山脉仿野生)	6	山西浑源凌云口
S2	蒙古黄芪	黄芪(恒山山脉仿野生)	8	山西浑源凌云口
S3	蒙古黄芪	黄芪(恒山山脉仿野生)	7	山西浑源凌云口
S4	蒙古黄芪	黄芪(恒山山脉仿野生)	12	山西浑源官儿乡
S5	蒙古黄芪	黄芪(恒山山脉仿野生)	12	山西浑源千佛岭乡
S6	蒙古黄芪	黄芪(恒山山脉仿野生)	10	山西浑源青磁窑乡
S7	蒙古黄芪	黄芪(恒山山脉仿野生)	7	山西浑源王庄堡乡
S8	蒙古黄芪	黄芪(恒山山脉仿野生)	6	山西浑源大仁庄乡
S9	蒙古黄芪	黄芪(恒山山脉仿野生)	7	山西浑源林场乡
S10	蒙古黄芪	黄芪(恒山山脉仿野生)	7	山西应县白马石乡
S11	蒙古黄芪	黄芪(恒山山脉仿野生)	9	山西应县白马石乡
S12	蒙古黄芪	黄芪(恒山山脉仿野生)	12	山西应县白马石乡
S13	蒙古黄芪	黄芪(恒山山脉仿野生)	7	山西广灵县梁庄镇
S14	蒙古黄芪	黄芪(恒山山脉仿野生)	8	山西广灵县梁庄镇
S15	蒙古黄芪	黄芪(恒山山脉仿野生)	9	山西广灵县梁庄镇
S16	膜荚黄芪	黄芪(内蒙包头栽培)	5	内蒙古包头市
S17	膜荚黄芪	黄芪(内蒙包头栽培)	2	内蒙古包头市
S18	膜荚黄芪	黄芪(内蒙赤峰栽培)	2	内蒙古赤峰市
S19	膜荚黄芪	黄芪(内蒙围场栽培)	1	河北围场
S20	膜荚黄芪	黄芪(河北围场栽培)	1	河北围场
S21	蒙古黄芪	黄芪(陕西子洲仿野生)	7	陕西子洲
S22	蒙古黄芪	黄芪(陕西子洲仿野生)	8	陕西子洲
S23	蒙古黄芪	黄芪(陕西子洲仿野生)	9	陕西子洲
S24	蒙古黄芪	黄芪(内蒙固阳栽培)	2	内蒙固阳
S25	蒙古黄芪	黄芪(内蒙武川栽培)	2	内蒙武川
S26	蒙古黄芪	黄芪(内蒙武川栽培)	2	内蒙武川
S27	蒙古黄芪	黄芪(甘肃陇西栽培)	2	甘肃陇西
S28	蒙古黄芪	黄芪(甘肃定西栽培)	2	甘肃定西
S29	蒙古黄芪	黄芪(甘肃定西栽培)	2	甘肃定西

1.4 数据处理

本研究呈现的实验数据, 均为 3 次测量后, 得出的平均值 \pm 标准偏差。在开展数据的统计和分析工作时, 使用的软件是 SPSS 21.0, 在实施试验数据的绘图作业时, 采用的软件是 OriginPro 2021、SIMCA 14.1。

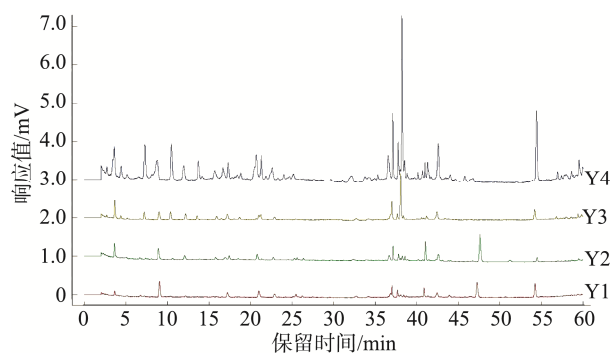
2 结果与分析

2.1 质量控制

2.1.1 供试品溶液的制备方法研究

通过对比甲醇、80%甲醇及含 4%氨水的 80%甲醇 3

种溶剂的提取效果, 结果表明, 80%甲醇作为提取溶剂时, 其色谱图中不仅色谱峰的数目多, 且峰面积较大。进一步对比加热回流与超声两种提取方式结果表明, 两者色谱图中色谱峰的数量较为一致, 但加热回流提取的色谱图中峰面积相对较大。结果见图 1, 最终选取以 80%甲醇为溶剂, 加热回流 1 h, 作为本方法的供试品溶液制备方法。



注: Y1. 甲醇超声提取; Y2. 为 80%甲醇超声提取; Y3. 4%氨水的 80%甲醇超声提取; Y4. 80%甲醇回流提取。

图 1 不同提取溶剂、提取方式的供试品制备比较

Fig.1 Comparison of preparation of test products with different extraction solvents and methods

2.1.2 精密度试验

选取黄芪(编号: S1)作为方法学研究用样品。采用 1.3.2 项下方法制备供试品溶液, 按 1.3.3 项下色谱条件连续进样 6 次, 以黄芪甲苷 I 色谱峰做为参照峰(S), 计算各共有峰的相对保留时间和相对峰面积, 相对标准偏差(relative standard deviations, RSDs)为 0.03%~0.06%、0.9%~1.7%, 表明仪器精密度良好。

2.1.3 稳定性试验

取精密度试验下供试品溶液, 在室温下放置 0、4、8、12、16、24 h 进行测定, 以 22 号峰黄芪甲苷 I 色谱峰为参照峰(S), 计算各共有峰的相对保留时间和相对峰面积, RSDs 分别为 0.04%~0.87%、0.26%~2.87%, 说明该供试品溶液在 24 h 内稳定。

2.1.4 重复性试验

取同一批样品, 根据 1.3.2 项下方法平行制备 6 份供试品溶液, 以 22 号峰黄芪甲苷 I 的相对保留时间和相对峰面积做参照, 计算其 RSD 值, 得到各共有峰的相对保留时间的 RSDs 为 0.02%~0.5%, 相对峰面积的 RSDs 为 1.7%~2.1%, 表明该方法的重复性良好。

2.1.5 线性关系考察

通过 22 号峰黄芪甲苷 I 对方法的线性关系进行考察。精密量取黄芪皂苷 I 对照品溶液适量, 用甲醇逐级稀释, 得到系列对照品溶液(质量浓度分别为 4.10、10.25、13.67、20.5、30.75 $\mu\text{g}/\text{mL}$), 进样, 记录峰面积。以质量浓度为横坐标(X, $\mu\text{g}/\text{mL}$), 峰面积为纵坐标(Y), 进行线性回归, 结果质量浓度在 4.10~30.75 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 线性范围内, $Y=0.00002X^2+0.0076X+0.0041$ ($r^2=0.9999$), 线性关系良好。

2.1.6 加标回收试验

取 S1 号黄芪样品约 0.5 g, 分别精密加入低、中、高质量浓度的黄芪皂苷 I 对照品溶液(2.05、4.10、6.14 $\mu\text{g}/\text{mL}$) 50 mL, 按 1.3.2 项下方法平行制备 9 份供试品溶液, 进样测定, 结果平均回收率为 99.82%~105.56%, 见表 2。精密度与准确度满足实验要求。

2.2 指纹图谱的构建

选择黄芪(恒山山脉仿野生)15 批次样品, 按既定方法制备和测定供试品, 并记录色谱峰, 将原始数据导入“中药色谱指纹图谱相似度评价系统”2.0 版本, 以其中稳定出现, 分离度好, 保留时间一致的 26 个共有峰进行标记, 生成黄芪(恒山山脉仿野生)指纹图谱。选择黄芪的质量标志物 22 号峰黄芪皂苷 I 作为参照峰(见图 2)。

2.3 指纹图谱的指认和归属

按既定方法测定标准品和样品溶液, 并记录色谱图, 通过与标准品的比对, 对 26 个共有峰中 8 个指纹峰进行了指认, 其中, 1 号峰为毛蕊异黄酮葡萄糖苷, 5 号峰为沙苑子苷 A, 7 号峰为芒柄花苷, 16 号峰为新芒柄花素, 18 号峰为黄芪皂苷 IV, 19 号峰为黄芪皂苷 III, 21 号峰为黄芪皂苷 II, 22 号峰为黄芪皂苷 I, 结果见表 3。

表 2 回收率试验结果
Table 2 Results of recovery test

序号	取样量/g	样品中含量/ μg	加入量/ μg	测得量/ μg	回收率/%	平均回收率/%	RSDs/%
1	0.5011	200.44	102.50	311.34	108.20	105.56	2.75
2	0.5013	200.52	102.50	309.21	106.04		
3	0.5024	200.96	102.50	305.97	102.45		
4	0.5023	200.92	205.00	402.21	98.19	98.82	0.59
5	0.5001	200.04	205.00	402.87	98.94		
6	0.5003	200.12	205.00	403.76	99.34		
7	0.5011	200.44	306.75	508.74	100.51	99.99	0.69
8	0.5012	200.48	306.75	507.99	100.25		
9	0.5015	200.60	306.75	504.91	99.20		

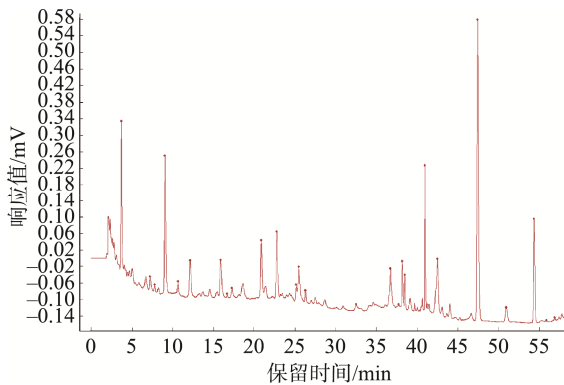


图2 黄芪(恒山山脉仿野生)指纹图谱

Fig.2 Fingerprint of *Astragalus* (Hengshan Mountain wild-simulated)

表3 标准品特征峰指认列表

Table 3 Identification list of standard feature peak

峰号	标准品	标准品保留时间/min	样品中相应色谱峰保留时间/min
1	毛蕊异黄酮 葡萄糖苷	3.600	3.610
5	沙苑子苷 A	10.395	10.389
7	芒柄花苷	12.405	12.407
16	新芒柄花素	32.390	32.392
18	黄芪皂苷IV	38.065	38.065
19	黄芪皂苷III	38.518	38.512
21	黄芪皂苷II	40.978	40.974
22	黄芪皂苷I	47.592	47.590

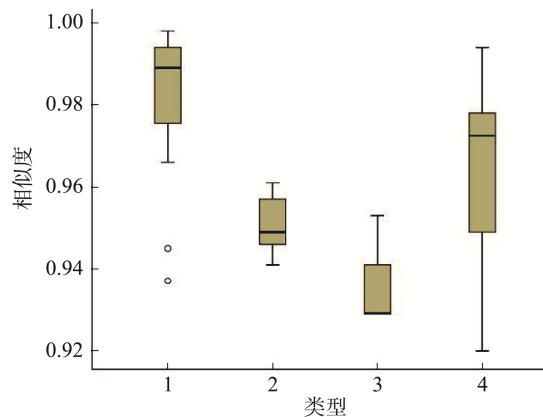
2.4 不同产地黄芪指纹图谱相似度分析

采用本研究建立的方法将其余产地的 14 批样品的指纹图谱与对照指纹图谱进行自动匹配,其相似度为 0.930~0.995(见图 3)。黄芪(恒山山脉仿野生)的相似度主要为 0.978~0.995,膜荚黄芪的相似度主要为 0.948~0.958,黄芪(陕西子洲仿野生)的相似度主要为 0.930~0.941,该方法可以较好地地区分不同基源的蒙古黄芪与膜荚黄芪,也可以较好地地区分不同产地蒙古黄芪的黄芪(恒山山脉仿野生)与黄芪(陕西子洲仿野生);栽培的黄芪主要为内蒙、甘肃产的蒙古黄芪整体相似度跨度较大,主要为 0.957~0.958 与黄芪(恒山山脉仿野生)质量相似度也可以得到较好地地区分。不同基原、产地的与栽培黄芪的典型图谱详见图 4。

2.5 化学计量学分析

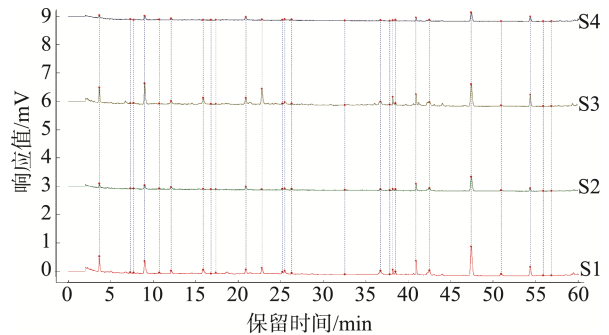
2.5.1 聚类分析

使用 OriginPro 2021 软件,以 29 批黄芪样品指纹图谱的共有峰的峰面积为变量进行热图分析,得到指纹图谱热图聚类分析图(见图 5),当类间距离为 25 时,样品被分为两类, S2~S13、S15、S22、S23 聚为一类; S1、S14、S16~S21、S24~S29 聚为一类。结果表明,黄芪(恒山山脉仿野生)与其他产地黄芪(不论野生还是栽培)所含有的化学成分存在一定差异,可通过指纹图谱各色谱峰的峰面积对不同基源的黄芪进行初步分类。



注:。表示数据偏离 1 倍偏差; 1. 黄芪(恒山山脉仿野生);
2. 黄芪(栽培膜荚黄芪); 3. 黄芪(陕西子洲仿野生);
4. 黄芪(栽培蒙古黄芪)。

图3 不同类型黄芪相似度箱体图

Fig.3 Similarity box diagram of different types of *Astragalus*

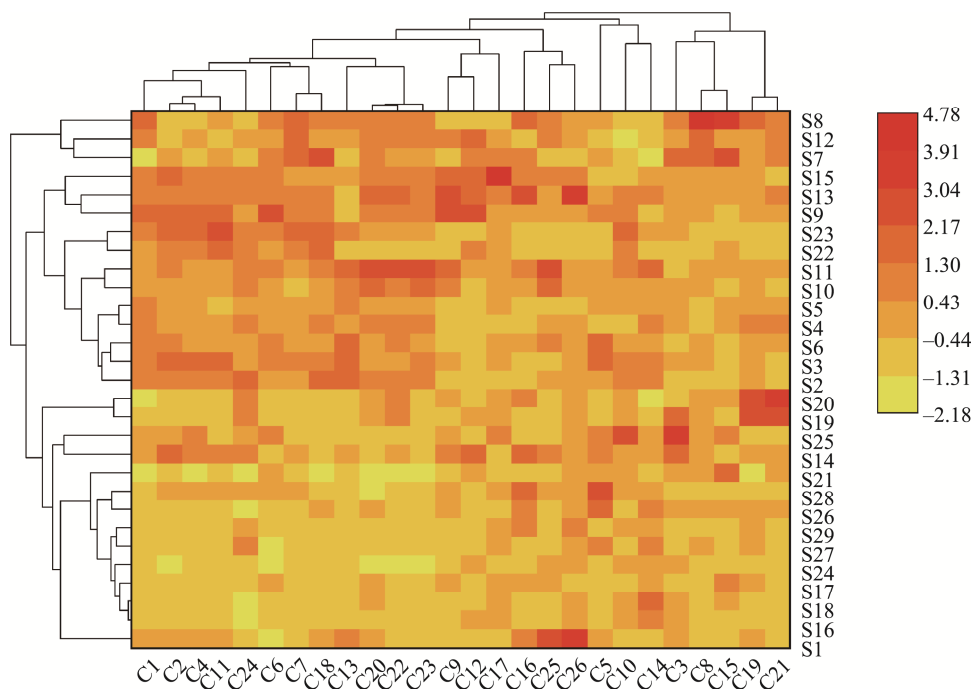
注: S1. 黄芪(恒山山脉仿野生)指纹图谱; S2. 膜荚黄芪;
S3. 黄芪(陕西子洲仿野生); S4. 黄芪(内蒙、甘肃栽培)。

图4 不同产地黄芪指纹图谱比较

Fig.4 Comparison of *Astragalus* fingerprints from different producing areas

2.5.2 主成分分析

以 29 批黄芪样品的指纹图谱共有峰的峰面积为变量,运用 SPSS 21.0 软件对其进行主成分分析(principal component analysis, PCA),得到凯撒-米尔-奥尔金检验值(Kaiser-Meyer-Olkin, KMO)>0.5,表明变量之间是存在相关性的,此分析模型可靠,可以用于区分不同基源的黄芪品种。根据特征值和累计贡献率以及初始特征值>1 为标准,得到 7 个主成分,累计贡献率达到 83.908%,表明这 7 个主成分可以代表变量包含的大部分信息,结果见表 4。依据绝对值分析,第 1 主成分的贡献度来自毛蕊异黄酮葡萄糖苷、组分 2、组分 4、组分 7、组分 11、黄芪甲苷IV、黄芪甲苷II、黄芪甲苷I、组分 23、组分 24、组分 8;第 2 主成分的贡献度来自 8 号峰、新芒柄花素;第 6 主成分的贡献度来自沙苑子 A,结果见表 5。以贡献度较大的成分的峰面积作为变量,运用 SIMCA14.1 软件分析,得到 PCA 得分图(见图 6),图中显示,29 批黄芪分为两组, S1、S16~S18、S19~S21、S24~S29 为一组, S2~S15、S22、S23 为一组。



注: C1、C5、C6、C15、C18、C19、C20、C22 分别为毛蕊异黄酮葡萄糖苷、沙苑子 A、芒丙花素、新芒丙花素、黄芪甲苷IV、黄芪甲苷III、黄芪甲苷II、黄芪甲苷I。其他组分未采用对照品进行指认。

图 5 29 批黄芪样品聚类分析图

Fig.5 Cluster analysis of 29 batches of *Astragalus* samples

表 4 主成分特征值和方差贡献率

Table 4 Eigenvalue and variance contribution rate of principal component

主成分	初始特征值	方差贡献率%	累积贡献率%
1	8.122	31.239	31.239
2	4.014	15.438	46.678
3	2.773	10.661	57.342
4	2.305	8.865	66.207
5	2.004	7.706	73.913
6	1.431	5.505	79.418
7	1.167	4.490	83.908

表 5 主成分矩阵列表

Table 5 List of principal component matrices

成分	1	2	6
毛蕊异黄酮葡萄糖苷	0.832		
组分 2	0.848		
组分 4	0.814		
组分 7	0.698		
组分 11	0.734		
黄芪甲苷IV	0.728		
黄芪甲苷II	0.789		
黄芪甲苷I	0.850		
组分 23	0.834		
组分 24	0.666		
组分 8		0.801	
新芒丙花素		0.722	
沙苑子 A			0.781

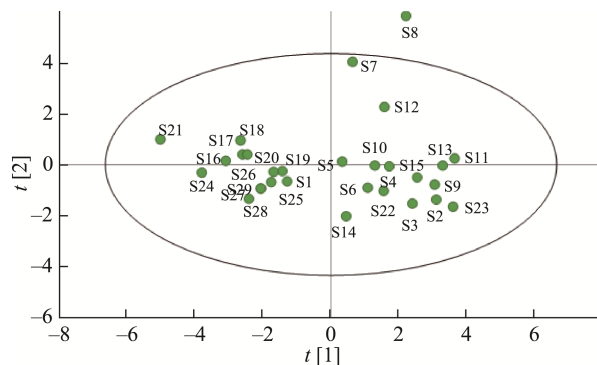


图 6 29 批次样品 PCA 图

Fig.6 PCA diagram of batch 29 samples

2.5.3 正交偏最小二乘判别分析

为深入分析不同产地不同基源样品间的差异性成分, 建立正交偏最小二乘判别分析(orthogonal partial least squares discriminant analysis, OPLS-DA)分析模型(见图 7), t1 轴将样品分为 2 部分。自变量拟合数 R^2X 为 0.66, 因变量拟合数 R^2Y 为 0.85, 模型预测指数 Q^2 为 0.768, 认为 R^2 和 Q^2 超过 0.5 表示模型拟合结果可接受, 能用于不同品种、不同产地、不同栽培方式的黄芪区分。经过 200 次置换检验, 比较 R^2 和 Q^2 值的位置, 表明该模型不存在过度拟合, 可对不同基源、不同栽培方式的黄芪进行有效判别(见图 8)。进一步以变量重要性投影(variable importance projection, VIP)值 > 1 为筛选标准(见图 9), 得到 7 号峰、黄芪皂苷IV、黄芪皂苷I、

毛蕊异黄酮葡萄糖苷、2 号峰、4 号峰、黄芪皂苷II、23 号峰等 8 个差异性化合物。

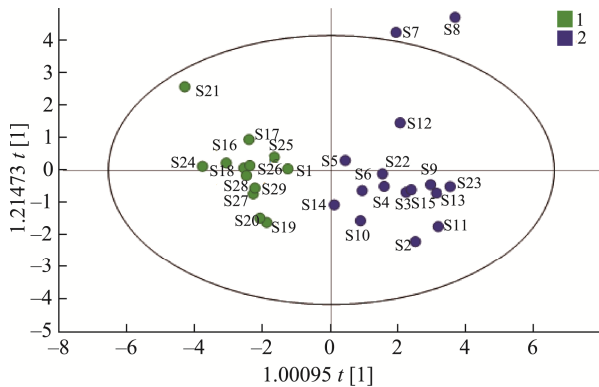


图 7 29 批次样品 OPLS-DA 分析模型图

Fig.7 OPLS-DA analysis model of batch 29 batches of samples

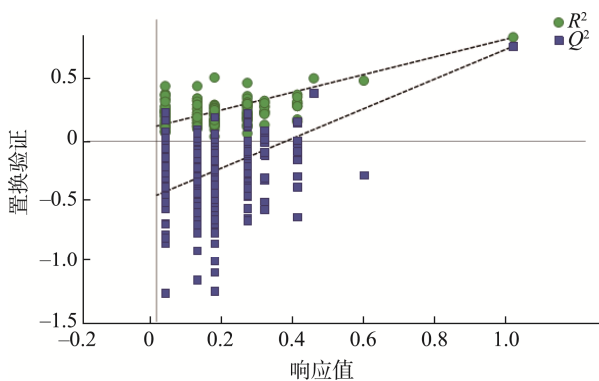
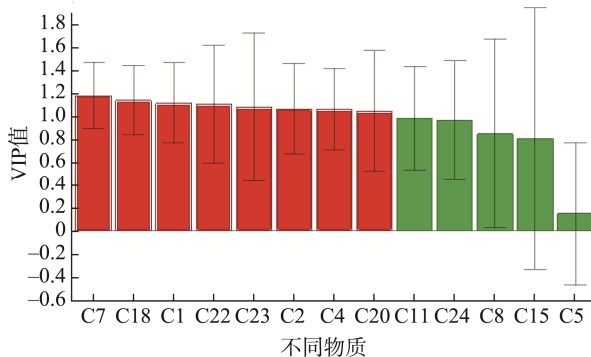


图 8 29 批次样品置换检验图

Fig.8 Replacement test diagram of 29 batches of samples



注: C7、C18、C1、C22、C23、C2、C4、C20、C11、C24、C8、C15、C5 分别组分 7、黄芪甲苷IV、毛蕊异黄酮葡萄糖苷、黄芪甲苷I、组分 23、组分 2、组分 4、黄芪甲苷II、组分 11、组分 24、组分 8、新芒丙花素、沙苑子 A。

图 9 29 批次样品 VIP 图

Fig.9 VIP picture of 29 batches of samples

3 结论

本研究采用 CAD 检测器, 共检测到 26 个出峰稳定且

可重现的指纹峰, 建立了恒山黄芪指纹图谱, 与传统的紫外检测器相比, CAD 检测器^[33]在黄芪皂苷类成分的检测中展现出了独特的优势。鉴定出包括沙苑子苷 A、芒柄花苷、黄芪皂苷I至IV等在内的 8 个关键特征峰。在建立指纹图谱时, 采用了“中药色谱指纹图谱相似度评价系统”2.0 版本, 并对 29 批次黄芪的相识度进行自动匹配, 其相似度为 0.930~0.995。其中黄芪(恒山山脉仿野生)的相似度主要为 0.978~0.995, 膜荚黄芪的相似度主要为 0.948~0.958, 黄芪(陕西子洲仿野生)的相似度主要为 0.930~0.941; 栽培的黄芪主要为内蒙、甘肃产的蒙古黄芪整体相似度跨度较大, 主要为 0.957~0.958, 与黄芪(恒山山脉仿野生)质量相似度也可以得到较好地地区分。聚类分析清晰地将样本分为两大类, 黄芪(恒山山脉仿野生)与其他产地黄芪(不论野生还是栽培)所含有的化学成分存在一定差异, 通过 PCA、OPLS-DA 分析则精准预测了影响黄芪质量差异的 8 种关键化合物, 而恒山黄芪在这 8 个分量值方面表现为质量分析与评价评判优异, 揭示了地域差异对黄芪质量的影响, 这些差异与产地、栽培方式及生长年限紧密相关。

本研究综合应用 UPLC-CAD 技术与多元化学计量学分析手段, 通过 26 个指纹峰成功构建了能够区分不同基原、产地及栽培方式的黄芪指纹图谱, 可对黄芪(恒山山脉仿野生)进行指纹图谱相似度评价, 与其他检测方法^[34-35]相比该方法专属性强, 灵敏度高, 可为恒山山脉仿野生黄芪的质量分析与研究提供参考依据和方法, 为黄芪野生、仿野生资源的保护和利用提供技术支撑。

参考文献

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(2020 年版)[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2020.
Chinese Pharmacopoeia Commission. Pharmacopoeia of the People's Republic of China 2020 [M]. Beijing: China Medical Science Press, 2020.
- [2] 杨淑惠, 王雨萌, 尹佳婷, 等. 基于不同模式生物评价黄芪的抗衰老作用[J]. 南京中医药大学学报, 2023, 39(9): 827-838.
YANG SH, WANG YM, YIN JT, et al. Evaluation of the anti-aging effects of *Astragalus membranaceus* based on different model organisms [J]. Journal of Nanjing University of Traditional Chinese Medicine, 2023, 39(9): 827-838.
- [3] GONG P, WANG DN, CUI DD, et al. Anti-aging function and molecular mechanism of *Radix astragali* and *Radix astragali* preparata via network pharmacology and PI3K/Akt signaling pathway [J]. International Journal of Phytotherapy & Phytopharmacology, 2021(84): 153509.
- [4] ZHANG JQ, QIAO YQ, LI DQ, et al. Aqueous extract from *Astragalus membranaceus* can improve the function degradation and delay aging on drosophila melanogaster through antioxidant mechanism [J]. Rejuvenation Research, 2022, 25(4): 181-190.
- [5] 杨振耀, 张晓青, 王成志, 等. 黄芪甲苷抗肿瘤机制及其在肺癌中的研究进展 [J/OL]. 中华中医药学刊, 1-18. [2024-06-26]. DOI: <https://link.cnki.net/urlid/21.1546.R.20240625.1206.016>
YANG ZY, ZHANG XQ, WANG CZ, et al. Anti-tumour mechanism of

- Astragaloside IV and its research progress in lung cancer [J/OL]. Chinese Archives of Traditional Chinese Medicine, 1-18. [2024-06-26]. DOI: <https://link.cnki.net/urlid/21.1546.R.20240625.1206.016>
- [6] BIAN Y, WANG G, ZHOU J, *et al.* *Astragalus membranaceus* (Huangqi) and *Rhizoma curcumae* (Ezhu) decoction suppresses colorectal cancer via down regulation of Wnt5/ β -catenin signal [J]. Chinese Medicine, 2022, 17(1): 11.
- [7] 董晓茜, 郑迪, 邱兆丹, 等. 基于网络药理学和分子对接探讨黄芪苦参配伍治疗结肠癌的作用机制[J]. 实用中医内科杂志, 2024, 38(7): 16-18.
- DONG XQ, ZHENG D, QIU ZD, *et al.* The mechanism of the compatibility of *Radix astragali* and *sophora flavescens* ait for treating colon cancer [J]. Journal of Practical Traditional Chinese Internal Medicine, 2024, 38(7): 16-18.
- [8] LIU YT, LV WL. Research progress in *Astragalus membranaceus* and its active components on immune responses in liver fibrosis [J]. Chinese Journal of Integrative Medicine, 2020, 26(10): 794-800.
- [9] 沈冠男, 宛传奇, 杨扬, 等. 黄芪多糖作为疫苗佐剂的免疫活性研究进展[J]. 浙江中西医结合杂志, 2024, 34(4): 384-387, 392.
- SHEN GN, WAN CQ, YANG Y, *et al.* Research progress on immunological activity of *Astragalus* polysaccharide as vaccine adjuvant [J]. Zhejiang Journal of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine, 2024, 34(4): 384-387, 392.
- [10] 韩冬. 黄芪甲苷对实验性糖尿病大鼠降糖、调脂和抗氧化作用的研究[J]. 现代中西医结合杂志, 2016, 25(4): 360-364.
- HAN D. Study of Astragalosides on antihyperglycemia, regulating plasma lipid and improving antioxidant ability in experimental diabetic rats [J]. Modern Journal of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine, 2016, 25(4): 360-364.
- [11] 毋敏. 基于肠道菌群的黄芪甲苷降糖作用的研究[J]. 工业微生物, 2024, 54(3): 74-76.
- WU M. Study on the hypoglycemic effect of *Astragaloside* based on intestinal flora [J]. Industrial Microbiology, 2024, 54(3): 74-76.
- [12] SHEN Z, CUI T, LIU Y, *et al.* *Astragalus membranaceus* and *Salvia miltiorrhiza* ameliorate diabetic kidney disease via the "gut-kidney axis" [J]. Phytomedicine: International Journal of Phytotherapy and Phytopharmacology, 2023(121): 155129.
- [13] 王佳俊, 向世嫫, 谢治深, 等. 黄芪化学成分抗纤维化作用及分子机制研究进展[J]. 中药新药与临床药理, 2023, 34(12): 1799-1805.
- WANG JJ, XIANG SX, XIE ZS, *et al.* Research progress on antifibrotic effect and molecular mechanisms of chemical components from *Astragali radix* [J]. Traditional Chinese Drug Research & Clinical Pharmacology, 2023, 34(12): 1799-1805.
- [14] PENG Y, DENG X, YANG SS, *et al.* Progress in mechanism of *Astragalus membranaceus* and its chemical constituents on multiple sclerosis [J]. Chinese Journal of Integrative Medicine, 2023, 29(1): 89-95.
- [15] SUN X, ZHENG YQ, TIAN YQ, *et al.* *Astragalus* polysaccharide alleviates alcoholic-induced hepatic fibrosis by inhibiting polymerase I and transcript release factor and the TLR4/JNK/NF- κ B/MyD88 pathway [J]. Journal of Ethnopharmacology, 2023, 314: 116662.
- [16] 李子舜, 赵长善, 陈仁伍, 等. 中医药基于NF- κ B信号通路治疗肝纤维化的研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志, 2023, 29(23): 275-282.
- LI ZS, ZHAO CP, CHEN RW, *et al.* Traditional Chinese medicine treats hepatic fibrosis via NF- κ B signaling pathway: A review [J]. Chinese Journal of Experimental Traditional Medical Formulae, 2023, 29(23): 275-282.
- [17] 国家卫生健康委员会, 国家市场监督管理总局. 关于党参等 9 种新增按照传统既是食品又是中药材的物质公告(2023 年第 9 号)[EB/OL]. (2023-11-09) [2023-11-17]. <http://www.nhc.gov.cn/sps/s7892/202311/f0d6ef3033b5433a882e3d009ff49bf.shtml>
- National Health Commission of the People's Republic of China, State Administration for Market Regulation. Announcement on 9 new substances that are both food and Chinese medicinal materials according to tradition, including *Codonopsis* (No.9 of 2023) [EB/OL]. (2023-11-09) [2023-11-17]. <http://www.nhc.gov.cn/sps/s7892/202311/f0d6ef3033b5433a882e3d009ff49bf.shtml>
- [18] 赵佳琛, 王艺涵, 金艳, 等. 经典方中黄芪的本草考证[J]. 中国实验方剂学杂志, 2022, 28(10): 337-346.
- ZHAO JC, WANG YH, JIN Y, *et al.* Herbal textual research on *Astragali radix* in famous classical formulas [J]. Chinese Journal of Experimental Traditional Medical Formulae, 2022, 28(10): 337-346.
- [19] 恒久北岳, 厚道浑源-浑源县奋楫争先绘就发展新篇章[N]. 大同日报, 2024-05-08(006).
- Eternal North Mountain, Harmonious Hunyuan-Hunyuan county strives to write a new chapter of development. [N]. Datong Daily, 2024-05-08(006).
- [20] 马琳军. 关于山西省黄芪产业情况的调研及发展建议[J]. 山西农经, 2023(16): 147-149.
- MA LJ. Investigation and development suggestions on the situation of *Astragalus* industry in Shanxi Province [J]. Shanxi Agricultural Economy, 2023(16): 147-149.
- [21] LIU LJ, LI HF, XU F, *et al.* Exploring the *in vivo* existence forms (23 original constituents and 147 metabolites) of *Astragali radix* total flavonoids and their distributions in rats using HPLC-DAD-ESI-IT-TOF-MSn [J]. Molecules, 2020, 25(23): 5560.
- [22] 窦维泽, 姜雯, 冯艺川, 等. 过氧化氢诱导膜黄芪不定根毛蕊异黄酮葡萄糖苷积累的转录组分析[J]. 作物杂志, 2024(1): 48-56.
- DOU WZ, JIANG W, FENG YC, *et al.* Transcriptome analysis reveals mechanisms of calycosin-7-O- β -D-glucoside accumulation in *Astragalus membranaceus* adventitious roots through hydrogen peroxide [J]. Crops, 2024(1): 48-56.
- [23] ZANG JQ, WU CX, GAO L, *et al.* Advances in pharmacology: Chapter four-astragaloside IV derived from *Astragalus membranaceus*: A research review on the pharmacological effects [M]. San Diego, Calif.: Academic Press, 2019.
- [24] 张尚祖, 张利英, 李启杨, 等. 黄芪甲苷通过调节水液代谢改善辐射诱导心肌细胞水肿的研究[J]. 中国临床药理学杂志, 2024, 40(13): 1874-1877.
- ZHANG SZ, ZHANG LY, LI QY, *et al.* Astragaloside IV ameliorates irradiation-induced cardiomyocyte edema by modulating fluid metabolism [J]. The Chinese Journal of Clinical Pharmacology, 2024, 40(13): 1874-1877.
- [25] 吴雪松, 雷勇胜, 张慕军, 等. 电喷雾检测器的工作特点及其在药物分析中的应用进展[J]. 中国新药杂志, 2023, 32(4): 420-427.
- WU XS, LEI YS, ZHANG MJ, *et al.* Characteristics of charged aerosol detector and its application in pharmaceutical analysis [J]. Chinese Journal

- of New Drugs, 2023, 32(4): 420–427.
- [26] HU XQ, DONG YY, HE QH, *et al.* Fabrication of a polystyrene microfluidic chip coupled to electrospray ionization mass spectrometry for protein analysis [J]. *Journal of chromatography. B, Analytical Technologies in the Biomedical and life Sciences*, 2015(990): 96–103.
- [27] 李玥, 傅琳. 高效液相色谱-电喷雾检测器法同时测定心荣颗粒的多种成分[J]. *海峡药学*, 2024, 36(3): 41–44.
- LI Y, FU L. Simultaneous determination of several constituents in XinRong Granules by HPLC-CAD [J]. *Strait Pharmaceutical Journal*, 2024, 36(3): 41–44.
- [28] 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.
- LI RR. Investigation of chemo markers of Hengshan *Astragalus radix* by LC-MS metabolomics [D]. Taiyuan: Shanxi University, 2021.
- [29] 姚静, 杨晓宁, 朱平, 等. HPLC-CAD 指纹图谱结合化学计量学评价不同产地黄芪质量[J]. *中成药*, 2022, 44(10): 3214–3219.
- YAO J, YANG XN, ZHU P, *et al.* Quality evaluation of *Astragalus radix* from different producing areas by HPLC-CAD fingerprints combined with chemometrics [J]. *Chinese Traditional Patent Medicine*, 2022, 44(10): 3214–3219.
- [30] 姚静, 孙欣光, 董蓉, 等. HPLC-CAD 一测多评法同时测定黄芪中 6 种成分含量[J]. *药学学报*, 2021, 56(2): 557–564.
- YAO J, SUN XG, DONG R, *et al.* Simultaneous quantitative analyses of six components in *Astragalus membranaceus* based on HPLC-CAD and quantitative analysis of multi-components with a single-marker [J]. *Acta Pharmaceutica Sinica*, 2021, 56(2): 557–564.
- [31] 邵财, 孙海, 关一鸣, 等. HPLC-MS 法测定黄芪药材中黄芪甲苷和毛蕊异黄酮葡萄糖苷含量[J/OL]. *特产研究*, 1-5. [2024-10-23]. DOI: 10.16720/j.cnki.tcyj.2024.190
- SHAO C, SUN H, GUAN YM, *et al.* Determination of astragaloside and calycosin-7-O-D-glucopyranoside in *Astragalus membranaceus* by HPLC-MS [J/OL]. *Special Wild Economic Animal and Plant Research*, 1-5. [2024-10-23]. DOI: 10.16720/j.cnki.tcyj.2024.190
- [32] 徐琳. 黄芪甲苷提取工艺优化及黄芪提取物在饮料中的应用[D]. 无锡: 江南大学, 2021.
- XU L. Optimal extraction of *Astragaloside IV* and application of *Astragalus* extract in beverage [D]. Wuxi: Jiangnan University, 2021.
- [33] 何亚芬, 余红, 张继红, 等. 基于气相色谱法的奇亚籽油脂脂肪酸指纹图谱构建及其掺伪鉴别[J]. *食品安全质量检测学报*, 2024, 15(10): 251–260.
- HE YF, YU H, ZHANG JH, *et al.* Construction of fatty acid fingerprint of *Salvia hispanica* L. oil based on gas chromatography and adulteration identification [J]. *Journal of Food Safety & Quality*, 2024, 15(10): 251–260.
- [34] 李明魁, 王梦娜, 李占峰, 等. 基于加热回流法的香菇多糖提取工艺优化及其产品研发[J]. *食品科技*, 2024, 49(3): 210–216.
- LI MK, WANG MN, LI ZF, *et al.* Optimization of lentinan extraction process based on heating reflux method and its product development [J]. *Food Science and Technology*, 2024, 49(3): 210–216.
- [35] 黎晶晶, 范三微, 于瑞莲. 高效液相串联电喷雾检测器一测多评法测定黄芪中 6 个成分的含量[J/OL]. *中药材*, 1754-1759. [2024-07-30]. DOI: 10.13863/j.issn1001-4454.2024.07.026
- LI JJ, FAN SW, YU RL. Determination of 6 components in *Astragalus membranaceus* by one test and multiple evaluation method with high performance liquid phase tandem electrospray detector [J/OL]. *Journal of Chinese Medicinal Materials*, 1754-1759. [2024-07-30]. DOI: 10.13863/j.issn1001-4454.2024.07.026

(责任编辑: 韩晓红 安香玉)