DOI: 10.19812/j.cnki.jfsq11-5956/ts.20260114002
引用格式: 赵元寿, 崔瑞彤, 魏文利, 等. 超高效液相色谱-四极杆静电场轨道阱-高分辨质谱技术鉴定干鲜黄芪中的差异代谢物与生物碱类化合物[J]. 食品安全质量检测学报, 2026, 17(9): 174–181.
ZHAO YS, CUI RT, WEI WL, *et al*. Identification of differential metabolites and alkaloids compounds in dried and fresh *Astragalus membranaceus* by ultra performance liquid chromatography-quadrupole electrostatic field orbitrap high-resolution mass spectrometry [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2026, 17(9): 174–181. (in Chinese with English abstract).

超高效液相色谱-四极杆静电场轨道阱-高分辨质谱技术鉴定干鲜黄芪中的差异代谢物与生物碱类化合物

赵元寿[1], 崔瑞彤[2], 魏文利[2], 王 千[2], 敖 震[2], 朱 艳[2*]
(1. 兰州工业研究院, 兰州 730050; 2. 甘肃农业大学食品科学与工程学院, 兰州 730070)

摘 要: 目的 采用超高效液相色谱-四极杆静电场轨道阱-高分辨质谱技术(ultra performance liquid chromatography-quadrupole electrostatic field orbitrap high-resolution mass spectrometry, UPLC-QE-HRMS)对不同干鲜状态下黄芪代谢物进行系统分析, 并探究生物碱类物质的差异。**方法** 通过主成分分析和正交偏最小二乘法判别分析筛选差异代谢物, 并结合京都基因和基因组数据库通路进行富集分析。**结果** 干鲜黄芪中共鉴定出 4771 种代谢产物, 其中包括 49 种生物碱类物质, 分属吲哚类、吡啶类、异喹啉类、吡咯烷类、咪唑类、哌啶类、噁唑类、二萜类、莨菪烷类、吲哚里西啶类、有机胺类、甾体类 12 类。以 P<0.05、倍数变化>2 或<0.5 以及变量重要性投影大于 1 为标准, 筛选出含量具有显著差异的生物碱类化合物。其中 α-卡茄碱在鲜黄芪中含量高, 而蝙蝠葛碱、2-羟基腺嘌呤、3-羟基-2-甲基吡啶、烟酰胺、*L*-缬氨酸以及促黑激素 N-氧化物在干黄芪中含量高。**结论** 本研究揭示了干鲜黄芪中生物碱类化合物的差异, 为黄芪生物碱类活性成分的进一步开发利用提供了理论依据。

关键词: 黄芪; 生物碱; 代谢物组学; 超高效液相色谱-四极杆静电场轨道阱-高分辨质谱技术

Identification of differential metabolites and alkaloids compounds in dried and fresh *Astragalus membranaceus* by ultra performance liquid chromatography-quadrupole electrostatic field orbitrap high-resolution mass spectrometry

ZHAO Yuan-Shou[1], CUI Rui-Tong[2], WEI Wen-Li[2], WANG Qian[2], AO Zhen[2], ZHU Yan[2*]

收稿日期: 2026-01-14
基金项目: 甘肃省自然科学基金项目(23JRRA1464, 24JRRA643); 甘肃省科技专员专项(25CXGA081); 兰州市科技计划项目(2025-4-024); 兰州工业研究院专家人才工作站项目
第一作者: 赵元寿(1977—), 男, 硕士, 高级工程师, 主要研究方向为农产品加工与贮藏。E-mail: 417351161@qq.com
***通信作者:** 朱艳(1977—), 女, 博士, 教授, 主要研究方向为农产品贮藏加工。E-mail: zhuyan0102@163.com

(1. *Lanzhou Industrial Research Institute*, *Lanzhou* 730050, *China*;
2. *College of Food Science and Engineering*, *Gansu Agricultural University*, *Lanzhou* 730070, *China*)

ABSTRACT: Objective To employ ultra performance liquid chromatography-quadrupole electrostatic field orbitrap high-resolution mass spectrometry (UPLC-QE-HRMS) to systematically analyze the metabolites in *Astragalus membranaceus* under different dried and fresh states, explore the differences of alkaloid substances. **Methods** Differential metabolites were screened using principal component analysis and orthogonal partial least squares discriminant analysis, and enrichment analysis was conducted based on pathways from the Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes. **Results** Total of 4771 kinds of metabolites were identified in both dried and fresh *Astragalus membranaceus*, including 49 kinds of alkaloids belonging to 12 categories: Indoles, pyridines, isoquinolines, pyrrolidines, imidazoles, piperidines, purines, diterpenoids, tropanes, indolizidines, organic amines and steroids. Alkaloid compounds with significant different content were screened using the criteria of $P<0.05$, fold change>2 or <0.5, and variable importance in projection>1. Among these, α-calcaine was found in highercontent in fresh *Astragalus membranaceus*, whereas dauricine, 2-hydroxyadenine, 3-hydroxy-2-methylpyridine, nicotinamide, *L*-valine and N-oxide (melanocyte-stimulating hormone) were more abundant in the dried samples. **Conclusion** This study reveals the differences in alkaloid compounds between fresh and dried *Astragalus membranaceus*, providing a theoretical basis for the further development and utilization of its bioactive alkaloid components in this medicinal herb.

KEY WORDS: *Astragalus membranaceus*; alkaloids; metabolomics; ultra performance liquid chromatography-quadrupole electrostatic field orbitrap high-resolution mass spectrometry

0 引　言

黄芪为豆科植物黄芪属蒙古黄芪(*Astragalus membranaceus*)的干燥根, 是我国重要的道地中药材和药食两用植物, 具有增强人体免疫力、抗炎、抗氧化等多种生物活性功能[1–2]。黄芪的生物活性主要源于其内部多种代谢产物, 主要包括皂苷、黄酮和生物碱等活性成分[3–5]。在“药食同源”理念日益普及的背景下, 消费者对中药材的天然形态愈发青睐。鲜黄芪作为黄芪的重要存在形式, 其在饮片、功能性食品及化妆品等领域的应用场景正持续扩展[5]。然而, 干燥过程会显著改变黄芪次生代谢物的组成, 进而导致其品质与生物活性有别于新鲜状态下的药材[6–7]。

生物碱是一类主要存在于植物体内的含氮有机化合物, 其分子结构中的氮原子多以含氮杂环结构形式(吡啶、吡咯、喹啉、异喹啉等)存在, 少数分子的氮原子不形成杂环, 但以氨基形式存在(脂肪胺、芳香胺等)[8–9]。氮原子中的孤对电子赋予生物碱类化合物具有弱碱性, 易于和酸结合生成盐, 因此生物碱具有显著的生理活性, 包括抗菌、抗炎、镇痛、抗氧化及免疫调节等作用, 成为筛选天然活性分子的资源库[10]。大量的研究表明, 遗传、新鲜状态、部位等因素均影响植物的生物活性代谢物成分的积累, 尤其是生物碱类成分的种类和含量的显著变化[11–14]。NANTONGO 等[15]发现两种药用植物甜假虎刺(*Carissa edulis*)和节木花椒(*Zanthoxylum chalybeum*)不同部位中生物碱和酚类物质的变化, 发现生物碱在不同植物部位的分布具有显著差异, 叶片中的生物碱含量显著高于树皮, 且采后干燥和冷冻处理对生物碱和酚类物质的活性成分含量的保持不同。HOSSAIN 等[16]研究发现, 干燥处理可显著改变马铃薯皮、马铃薯芽和马铃薯浆果甾体类生物碱的含量, 尤其是 α-茄碱和 α-卡茄碱两种生物碱在干燥样品中的含量远远高于新鲜材料, 且不同干燥方式和组织部位中生物碱的积累也存在显著差异。但是, 不同干鲜状态下黄芪中的代谢物和生物碱类化合物组成与含量差异的系统分析鲜有系统研究。非靶向代谢组学技术广泛应用于中药材的成分识别、质量评价和作用机制研究。高效液相色谱-质谱技术凭借其高灵敏度与广谱覆盖能力, 能够对样品中多种代谢物进行同时定性与定量分析, 成为代谢组研究的重要手段[17–19]。本研究以干黄芪与鲜黄芪为研究对象, 采用非靶向代谢组学技术, 基于超高效液相色谱-四极杆静电场轨道阱-高分辨质谱技术(ultra performance liquid chromatography-quadrupole electrostatic field orbitrap high-resolution mass spectrometry, UPLC-QE-HRMS)系统分析干鲜黄芪生物碱类代谢物的组成特征。通过主成分分析(principal components analysis, PCA)与正交偏最小二乘判别分析(orthogonal partial least squares discriminant analysis, OPLS-DA)等多元统计方法, 从代谢组学的角度探讨不同干鲜状态下黄芪生物碱成分积累的差异, 旨在为揭示干鲜黄芪活性成分变化规律提供科学依据, 并为其质量控制与深加工利用提供理论支持。

1 材料与方法

1.1 植物材料

新鲜的蒙古黄芪于2024年12月采自黄芪道地产地甘肃省陇西市岷县药材市场，样品于 3 d 内通过冷链物流运至实验室，4 ℃低温保存备用。

1.2 试剂与仪器

1.2.1 试 剂

甲醇、乙腈(色谱纯，德国 CNW Technologies GmbH 公司)；甲酸(色谱纯，美国 Sigma-Aldrich 公司)；*L*-2-氯苯丙氨酸(103616-89-3，纯度≥98%，上海恒柏生物科技有限公司)。

1.2.2 仪器与设备

Vanquish 超高效液相色谱仪、Q Exactive Focus 高分辨质谱仪、Heraeus Fresco 17 高速离心机(美国 Thermo Fisher Scientific 公司)；HGZF-II/H101-3 电热鼓风干制箱(上海跃进医疗器械有限公司)；BSA124S-CW 万分之一分析天平(德国 Sartorius 公司)；JXFSTPRP-24 研磨仪(海净信科技有限公司)；明澈 D24 UV 纯水系统(美国 Merck Millipore 公司)；YM-080S 超声波清洗器(深圳市方奥微电子有限公司)；ACQUITY UPLC BEH C_{18} 色谱柱(2.1 mm×100 mm，1.7 μm，美国 Waters 公司)；GS-YC001-G 切片机(广州狮牌电子科技有限公司)；DW-86L388J 超低温冰箱(青岛海尔特种电器有限公司)。

1.3 样品制备

将购买的鲜黄芪，去除芦头，用清水冲洗干净表面尘土，自然晾干后，用切片机将鲜黄芪主根切成厚度为 3 mm 的均匀切片，将切片混匀后按数量随机分为两组，一组切片作为鲜黄芪样品；另一组切片置于电热鼓风干制箱中，42 ℃恒温烘干至恒重(以连续两次称重的差值小于等于 0.005 g 判定为恒重，称量间隔 1 h)，作为干黄芪样品。分别将新鲜和干的黄芪片用研磨仪在 60 Hz 下研磨 60 s，100 目筛过筛后，得到新鲜和干黄芪的粉末，置于超低温冰箱中保存备用。

1.4 鲜黄芪水分含量百分数的测定

参照《中华人民共和国药典(2020 年版)》0832 水分测定法中的烘干法测定黄芪中的含水量，对烘干前的鲜黄芪初始水分含量做了测定，根据减失的重量计算供试鲜黄芪的水分含量百分数。水分含量计算见公式(1)。

$$水分含量/\%=\frac{W_1-W_2}{W_1-W_0}\times 100\% \quad (1)$$

式中：W_0 为空容器重，g；W_1 为样品和容器的初重，g；W_2 为烘干后的样品和容器的重量，g。本研究测定鲜黄芪的水分含量为 66.4%。

1.5 代谢物提取

参考徐春飞等[20]的方法，进行黄芪代谢物的提取。称取 100 mg 粉末样品，加入 500 μL 提取液[甲醇:水=4:1 (*V*:*V*)，含内标 *L*-2-氯苯丙氨酸，质量浓度 10 μg/mL]，混匀后涡旋振荡 30 s，再以 45 Hz 匀浆 4 min，置于冰水浴中超声处理 1 h。随后将样品于–40 ℃静置 1 h 后，于 4 ℃条件下 12000 r/min(离心力 13800×*g*，离心半径 8.6 cm)离心 15 min，吸取上清液，经 0.22 μm 聚四氟乙烯微孔滤膜(直径 13 mm)过滤后得到代谢物的粗提液，滤液于–80 ℃超低温冰箱中保存，以备上机分析。

1.6 色谱和质谱分析条件

色谱分析在超高效液相色谱系统上进行。分离使用 Waters UPLC BEH C_{18} 色谱柱(2.1 mm×100 mm，1.7 μm)，柱温设定为环境温度。流动相由含 0.1%甲酸的水溶液(A 相)和含 0.1%甲酸的乙腈溶液(B 相)组成。洗脱程序采用梯度模式：0~11.0 min，A 相比例由 85%线性将至 25%；11.0~12.0 min，A 相比例由 25%线性降至 2%；12.0~14.0 min，保持 2% A 相；14.0~14.1min，A 相比例迅速回升至 85%，并维持至 16 min 以平衡色谱柱。流速设定为 0.5 mL/min，进样器进样量为 5 μL。

采用配备电喷雾离子源的 Q Exactive Focus 高分辨质谱仪进行代谢物的质朴检测。数据采集在正负离子切换模式下进行，采用数据依赖性采集策略：首先进行全扫描(*m*/*z* 100 至 1500，分辨率 70000)，随后自动选取强度最高的前 3 个母离子进行高阶碰撞解离碎裂扫描。二级质谱的分辨率设为 17500 归一化碰撞能量采用阶梯模式，分别设置为 15%、30%、45%。离子源关键参数优化为：鞘气流速 45 arb，辅助气流速 15 arb，毛细管温度 400 °C；喷雾电压正离子模式下设为 4.0 kV，负离子模式下设为–3.6 kV。所有仪器的控制与数据采集均通过 Xcalibur 4.1 软件完成。

1.7 数据处理

采用 Q Exactive Focus 质谱仪进行质谱数据采集。采用数据依赖性采集模式，同时获取一级全扫描质谱与二级质谱数据。获得的原始数据经 Xcalibur 4.1 软件进行格式转换及基础预处理后，导入 4.0 XCMS 软件进行非靶向代谢组学数据处理，包括：色谱峰的检测、保留时间校正以及峰面积积分。最终生成包含 *m*/*z*、保留时间对、样品峰面积的数据矩阵。通过与上海百趣自建的二级质谱数据库匹配包含二级质谱信息的色谱峰完成初步物质鉴定，对峰面积数据矩阵进行预处理，包括：缺失值填充[数值模拟方法为最小值乘以(0,0.5)间随机数进行填补]、总峰面积归一化。使用 3.3.5 R 语言和 V16.0.2 SIMCA 软件进行多变量统计分析，包括无监督的 PCA 观察样本整体分布及离群值；有监督的 OPLS-DA 模型寻找组间差异，并通过 200 次置换检验验证模型的有效性，防止过拟合。差异代谢物的筛选

标准为：OPLS-DA 模型的变量投影重要性值大于 1.0，组间差异的统计学显著性(P<0.05)，且变化倍数(fold change, FC)>2 或<0.5。最终筛选得到的差异代谢物，利用京都基因与基因组百科全书(Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes, KEGG)数据库进行代谢通路富集分析与分类注释。

2　结果与分析

2.1　鲜黄芪和干黄芪中的代谢物多元统计分析

为系统分析鲜黄芪与干黄芪之间代谢物的整体差异，本研究首先采用非监督的 PCA 对两组样本的所有代谢物数据进行了分析。结果显示，鲜黄芪和干黄芪的代谢物在 PCA 得分图上呈现明显的组间分离趋势，组内生物学重复样本也表现出较高的聚集性(图 1A)，所提取的前两个主成分 1 和 2 的方差贡献率分别为 59.8%和 19.2%，累计贡献率为 79.0%。这一结果表明，PCA 模型能够有效区分新鲜黄芪与干黄芪样本，且组内样本的高度一致性验证了实验数据的可靠性，为后续筛选差异代谢物奠定了基础。

有监督的 OPLS-DA 被用来进一步增强组间判别能力并识别关键的差异代谢物。OPLS-DA 模型的性能通常通过其解释能力(R^2X、R^2Y)与预测能力(Q^2)进行评价，其中 Q^2>0.9 且 R^2 接近 1，表明模型性能优良。本研究所构建的代谢物 OPLS-DA 模型参数为：Q^2=0.87，R^2X=0.724，R^2Y=1.000(图 1B)。尽管 Q^2 略低于 0.9，但模型的 R^2Y 达到 1.000，显示出极强的组间判别能力。后续的置换检验交叉验证结果(图 1C)进一步证实了该模型未出现过拟合，具有良好的稳健性，适用于后续的差异代谢物筛选分析。

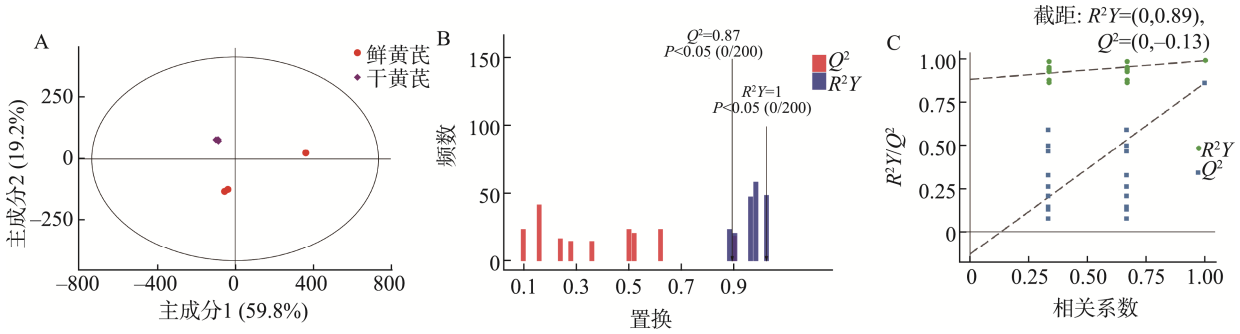


图 1　鲜黄芪和干黄芪代谢物 PCA (A)、OPLS-DA (B)和 OPLS-DA 置换检验(C)

Fig.1　PCA (A), OPLS-DA (B) and OPLS-DA permutation test (C) of metabolites in fresh *Astragalus membranaceus* and dried *Astragalus membranaceus* samples

2.2　鲜黄芪和干黄芪中的代谢物鉴定与差异分析

基于 UPLC-QE-HRMS 技术，本研究对鲜黄芪和干黄芪样本进行了系统的代谢物定性和定量分析。共鉴定并注释了 4771 种代谢物，其中，相对丰度较高的代谢物主要类别包括：异戊烯醇脂类(451 种，占总代谢物的 21.3%)、黄酮类化合物(215 种，10.2%)、甾类化合物(158 种，7.5%)、萜类化合物(155 种，7.3%)、含氧化合物(119 种，5.6%)、脂肪酰基化合物(112 种，5.3%)、生物碱化合物(77 种，3.6%)等。此外，还鉴定出羧酸及其衍生物、异黄酮类、苯丙素类、三萜类及酚类物质等多种具有重要生物活性的化合物(图 2)。

2.3　鲜黄芪和干黄芪中生物碱类化合物的差异分析

生物碱是黄芪中的一类重要的生物活性成分。为探究干制前后生物碱类物质的差异，本研究对干鲜黄芪中的生物碱进行了针对性的分析。结果表明，在干鲜黄芪中共鉴定出 13 类共计 49 种生物碱化合物。如图 3A 所示，其中以吲哚类生物碱含量最多(12 种)，其次为吡啶类和异喹啉类生物碱(各 7 种)。此外还检出包括吡咯烷类(5 种)、咪唑类(4 种)、哌啶类(3 种)在内的多种结构类型，以及莨菪烷类、嘌呤类和二萜类等少量特殊结构生物碱。

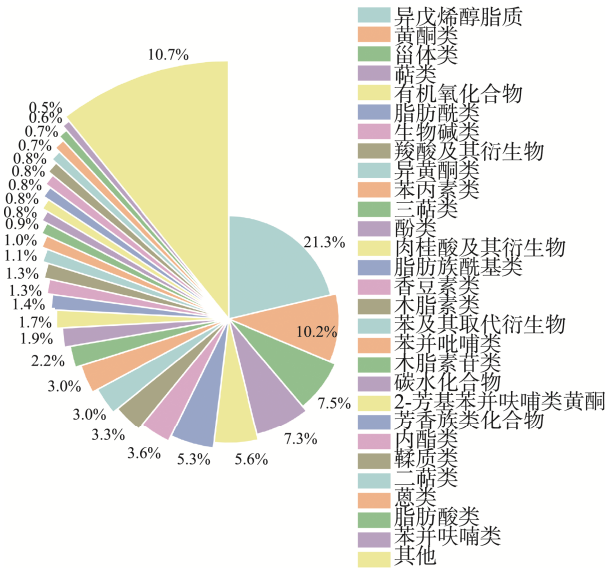


图 2　鲜黄芪和干黄芪样本中不同种类代谢物比例

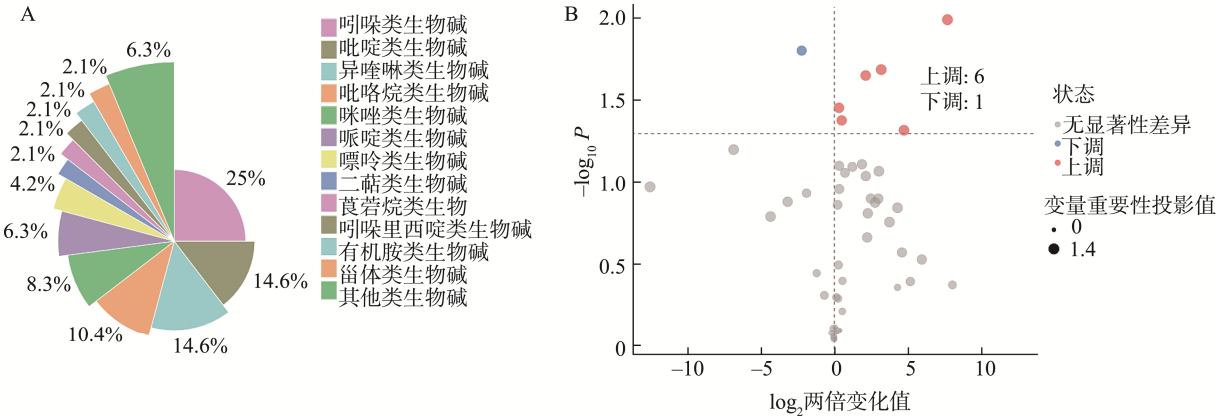
Fig.2　Proportion of different metabolites in fresh *Astragalus membranaceus* and dried *Astragalus membranaceus* samples

采用多维(OPLS-DA 模型，变量重要性投影>1)与单维(Student's *t* 检验，*P*<0.05)分析相结合的方法，并设定变化倍数阈值(FC>2，FC<0.5)，以筛选组间差异显著的生物碱。由火山图分析(图 3B)直观展示了所有检测到的生物碱在组间的差异分布情况，其中每个点代表一种化合物，共筛选出 7 种在两组间存在显著差异的生物碱。

2.4 干鲜黄芪中的 7 种显著差异的生物碱代谢物

鲜黄芪与干黄芪的代谢物比较分析共鉴定出 7 种含量具有显著差异的生物碱类化合物。这些差异代谢物的分布模式通过箱线图展示(图 4A)。结果显示，与鲜黄芪相比，干黄芪的中 6 种生物碱，分别是蝙蝠葛碱、3-羟基-2-甲基吡啶、2-羟基腺嘌呤、烟酰胺、*L*-缬氨酸以及促黑激素 *N*-氧化物的相对含量较高。与之相反，*α*-卡茄碱在鲜黄芪中的相对含量高于干黄芪。上述变化表明，鲜黄芪在烘干失水过程中特异性地改变了生物碱类成分的积累与转化。

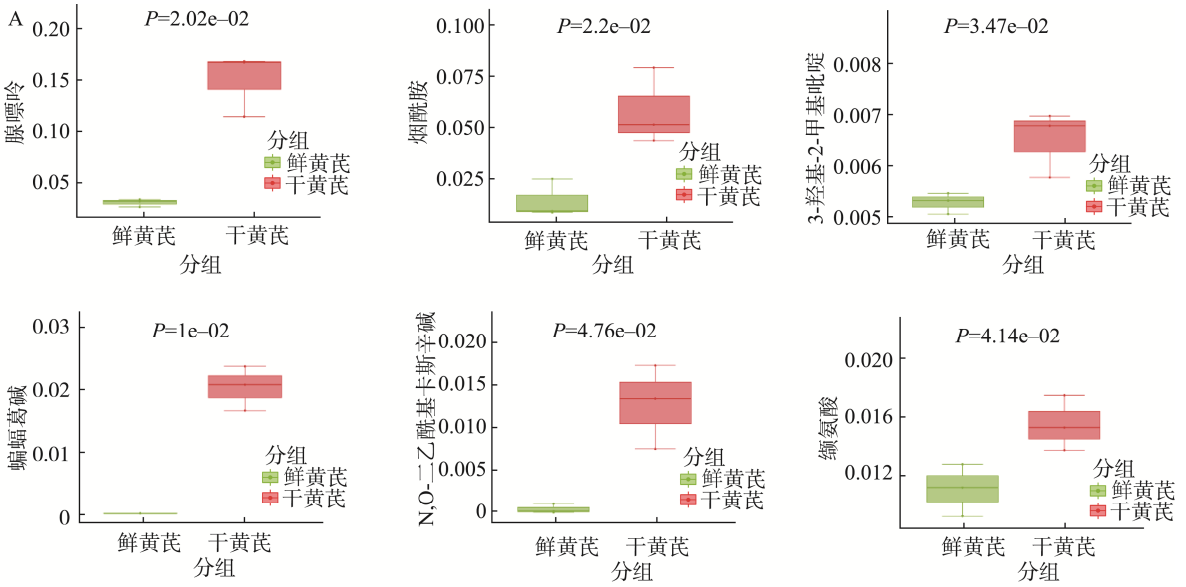
相关性分析表明(图 4B)，除*α*-卡茄碱与其他代谢物呈显著负相关外，其余 6 种上调的代谢物之间均表现出显著的正相关关系(相关系数 0.54~1.00，*P*<0.05)。其中，*L*-缬氨酸与烟酰胺和促黑激素 *N*-氧化物的相关性最高(*r*=0.94~1.00)，提示这些分属不同代谢途径的代谢物可能与同一或相互关联的代谢途径具有被协同调控的网络关系，ZIEGLER 等[18]报道了分支链氨基酸、烟酰胺及促黑激素代谢物与色氨酸的代谢途径相关。



注: A. 生物碱类物质的种类及比例; B. 干鲜黄芪中的生物碱化合物差异性的火山图。

图 3 鲜黄芪和干黄芪中生物碱有机化合物的差异性分析

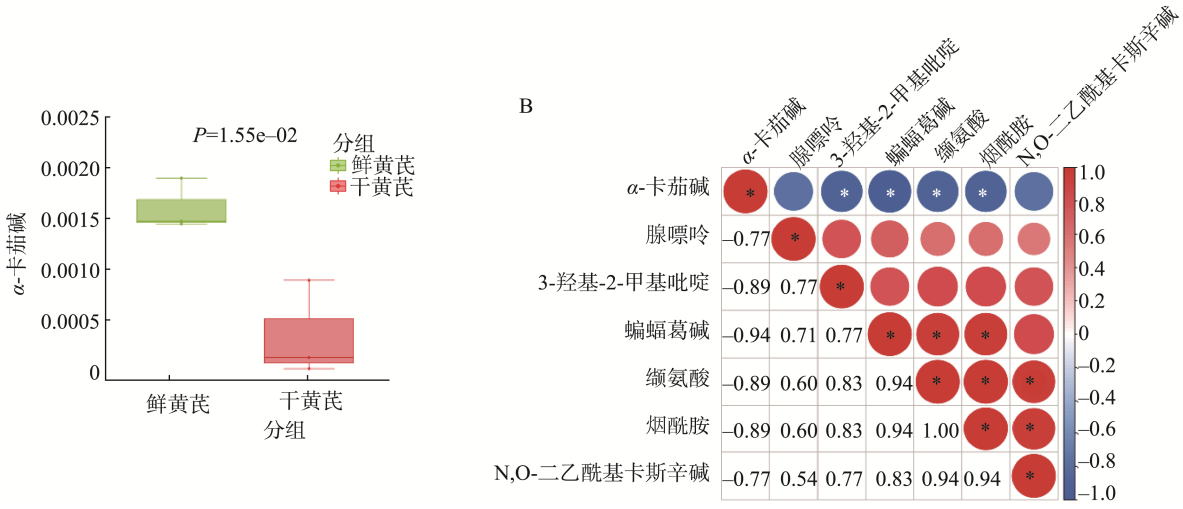
Fig.3 Differential analysis of alkaloids organic compounds in fresh *Astragalus membranaceus* and dried *Astragalus membranaceus* samples



注: *表示差异显著，*P*<0.05。

图 4 鲜黄芪和干黄芪样品中的显著差异的生物碱化合物的箱线图(A)和相关性分析(B)

Fig.4 Box plot (A) and correlation analysis (B) of significantly different alkaloid compounds in fresh *Astragalus membranaceus* and dried *Astragalus membranaceus*



注: *表示差异显著, $P<0.05$。

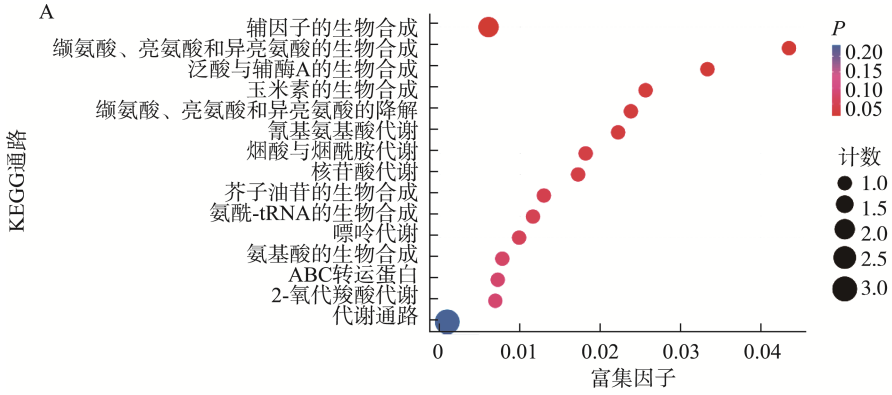
图 4(续)　鲜黄芪和干黄芪样品中的显著差异的生物碱化合物的箱线图(A)和相关性分析(B)

Fig.4　Box plot (A) and correlation analysis (B) of significantly different alkaloid compounds in fresh *Astragalus membranaceus* and dried *Astragalus membranaceus*

上述代谢物的差异表明，鲜黄芪的烘干显著改变了黄芪的化学成分组成。蝙蝠葛碱作为生物碱类成分，其显著升高可能与干制促进结合态生物碱的释放有关。3-羟基-2-甲基吡啶为烟酸衍生物，其增加可能源于前体的氧化或降解。*L*-缬氨酸及促黑激素 N-氧化物属于氨基酸及其衍生物，其含量上调趋势可能与蛋白质热降解及氨基酸转化增强有关。*α*-卡茄碱在鲜黄芪中显著富集，且与其他代谢物呈显著负相关，说明该成分在干制后可能因热不稳定或发生代谢转化而降解，从而失去与其他上调代谢物之间的协同变化模式。对比了干燥对植物提取物代谢谱的影响，发现烘干的高温导致植物细胞结构破坏，使胞内酶与底物接触，引发热不稳定成分的降解，使植物代谢物谱发生显著差异变化[19]。本研究结果表明，在鲜材与干材之间，黄芪的代谢谱发生显著改变，多数成分因细胞结构破坏和降解转化而积累，少数热不稳定或与防御相关的成分则减少。干燥显著影响了黄芪中核苷、氨基酸衍生物及生物碱的水平，可能对其药理活性产生潜在影响。

2.5　不同干鲜黄芪差异生物碱代谢物的通路分析

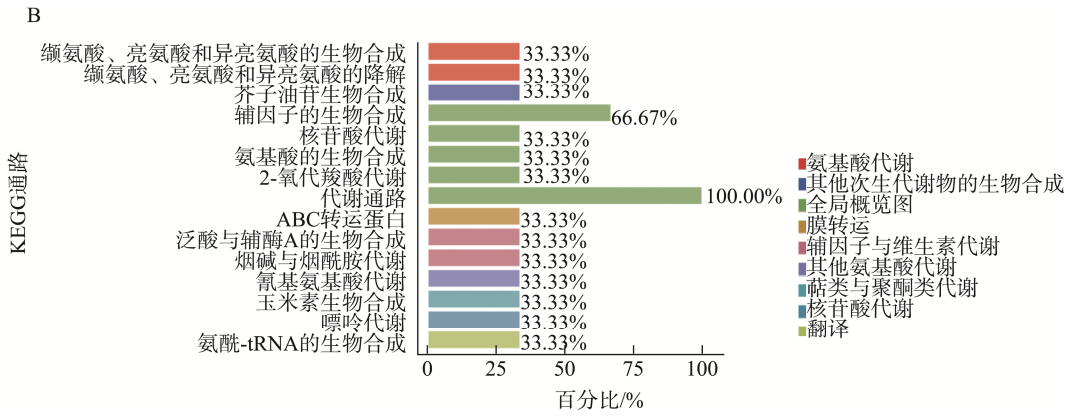
对鲜黄芪组与干黄芪组之间筛选出的 7 种差异生物碱代谢物进行 KEGG 通路映射与富集分析，共富集到 15 条代谢通路(图 5A)，且注释的每条代谢通路中，差异代谢物的分布比例分别为代谢途径通路 100.00%、辅因子的生物合成通路 66.67%、2-氧代羧酸代谢通路 33.33%、氨基酸生物合成通路 33.33%、核苷酸代谢通路 33.33%、嘌呤代谢通路 33.33%、缬氨酸、亮氨酸、异亮氨酸的合成以及降解通路各占 33.33%、氰基氨基酸代谢通路为 33.33%、烟酸和烟酰胺代谢通路为 33.33%、泛酸和辅酶 A 生物合成通路为 33.33%、玉米素生物合成通路为 33.33%、芥子油苷生物合成通路为 33.33%、氨酰-tRNA 生物合成通路为 33.33%、ABC 转运蛋白通路为 33.33%。其中，代谢途径(P=0.00096)和辅因子的生物合成(P=0.00610)两条通路呈现显著富集($P<0.05$)(图 5B)。差异代谢物 C00153(烟酸)、C00147(腺嘌呤)、C00183 (*L*-缬氨酸)映射于代谢途径；而



注: A. 气泡图; B. 富集通路的百分比。转运 RNA (transfer RNA, tRNA)。

图 5　鲜黄芪和干黄芪样品中差异生物碱的 KEGG 通路富集分析

Fig.5　KEGG pathway enrichment analysis of differential alkaloids in fresh *Astragalus membranaceus* and dried *Astragalus membranaceus*



注: A. 气泡图; B. 富集通路的百分比。转运 RNA (transfer RNA, tRNA)。

图 5(续) 鲜黄芪和干黄芪样品中差异生物碱的 KEGG 通路富集分析

Fig.5 KEGG pathway enrichment analysis of differential alkaloids in fresh *Astragalus membranaceus* and dried *Astragalus membranaceus*

C00153(烟酸)和 C00183 (*L*-缬氨酸)映射于辅因子生物合成通路, 这两条通路均涉及能量代谢和辅因子合成的关键过程, 说明鲜黄芪与干黄芪间的代谢差异可能与能量代谢重编程、以及辅酶 A 和烟酰胺腺嘌呤二核苷酸(nicotinamide adenine dinucleotide, NAD^+)相关反应的调控变化有关, 从而影响次生代谢物的生物合成与积累。嘌呤代谢和烟酰胺代谢通路的活跃, 表明黄芪的干燥可能促进了核苷酸及辅酶类物质的降解与再分配; 氨基酸代谢相关通路的富集, 说明蛋白质分解加速, 氨基酸及其衍生物随之积累; 生物碱合成途径的差异反映出黄芪的干燥可能改变防御相关代谢模式[20]。

3 讨论与结论

黄芪作为重要的中草药资源和功能性食品原料, 其化学成分及活性物质的积累规律一直受到广泛关注。生物碱是黄芪中重要的次生代谢物, 具有免疫调节、神经保护及抗炎等多种药理活性, 其组成与含量易受加工方式影响[21]。本研究采用 UPLC-QE-HRMS 技术对鲜黄芪(水分含量百分比约 60%)和干黄芪的所有代谢物及生物碱进行鉴定与分析, 通过 PCA 和 OPLS-DA 筛选出鲜黄芪与干黄芪间生物碱类成分的差异, 明确了鲜黄芪干燥前后的生物碱类成分的变化规律。

本研究在干鲜黄芪样品中共鉴定出 4771 种代谢物, 包括 13 类 49 种生物碱化合物, 且以吲哚类、吡啶类和异喹啉类生物碱为主, 生物碱化合物的种类分布符合豆科植物典型的生物碱谱特征[22]。通过多维分析与单因素统计, 鲜黄芪在干燥后, 7 种生物碱代谢物表现显著差异变化, 其中, 蝙蝠葛碱、促黑激素 N-氧化物、腺嘌呤、烟酰胺、3-羟基-2-甲基吡啶及缬氨酸在干黄芪中的相对含量显著上升, 而 *α*-卡茄碱则在鲜黄芪中含量更高, 烘干后含量下降。这些变化与干制引起的黄芪细胞结构破坏、酶活性改变及蛋白质热降解密切相关, 可促进核苷酸降解、辅酶释放及氨基酸转化[23−24]。

干制作为药材加工中的关键步骤, 其温度、时间及水分变化会显著影响化学成分的稳定性与转化速率。干制不仅是水分去除的过程, 还会引发细胞膜破裂、酶活性改变以及一系列化学反应, 从而改变代谢物的结构与类型[25−26]。对于热稳定性较高的苯并异喹啉类与吡啶环类生物碱(如蝙蝠葛碱、烟酰胺), 烘干过程可能促进前体化合物的降解和结构的转化, 从而释放出游离态或衍生化产物, 导致检测含量升高; 相反, 结构中含有不稳定糖苷键或易氧化侧链的固醇生物碱(如 *α*-卡茄碱), 在干燥过程中易发生糖链断裂或侧链氧化, 导致其含量显著降低。该变化规律与已有研究中多种含生物碱植物在热加工过程中的成分响应趋势一致[27−30]。相关性分析显示, 除 *α*-卡茄碱与其他代谢物呈显著负相关外, 其他多数上调代谢物之间均呈现高度正相关关系, 其中, 缬氨酸与烟酰胺及促黑激素 N-氧化物的强协同变化趋势较为显著, 表明这些化合物可能共同参与某些相互关联的代谢途径, 干制引发了代谢网络系统性重构。*α*-卡茄碱的负相关模式表明其在烘干过程中中可能通过独立的代谢途径发生降解, 与其他代谢物的代谢转化相关性较低。从药理作用角度分析, 热稳定性生物碱的增加, 可能增强黄芪的抗炎、抗氧化和免疫调节活性; 而热敏性潜在毒性成分的减少, 则有助于提高其用药用和食用安全性。这为优化黄芪干制工艺提供了理论依据, 即通过精准控制干制温度和时间, 可实现药效成分最大化与毒性成分最小化的平衡。

KEGG 通路富集分析结果显示, 这些差异的代谢物主要富集于“代谢途径”和“辅因子生物合成”两类核心通路, 涉及能量代谢重编程及辅酶 A、NAD^+依赖反应调控, 进而影响次生代谢产物的合成途径。嘌呤代谢和烟酰胺代谢的活跃, 提示干制促进了核苷酸及相关辅酶类物质的降解与再利用, 氨基酸代谢的增强则反映了蛋白质分解进程的加快。这些变化既可能是植物应对失水胁迫的主动防御反应, 也可能是非生物胁迫条件下代谢失衡导致的副产物积累。

本研究通过非靶向代谢组学技术, 结合多元统计分析(PCA 和 OPLS-DA)与 KEGG 通路富集分析, 系统比较了鲜黄芪和干黄芪中生物碱代谢物的差异。结果表明, 干鲜黄芪中共鉴定出 49 种生物碱代谢物, 归属于 13 种不同类别, 且生物碱组成存在显著差异, 差异的生物碱主要与辅

因子的生物合成通路等有关。本研究为评价不同干鲜状态黄芪生物碱类物质的变化提供了新视角。

参考文献

[1] DURAZZO A, NAZHAND A, LUCARINI M, *et al*. Astragalus (*Astragalus membranaceus* Bunge): Botanical, geographical, and historical aspects to pharmaceutical components and beneficial role [J]. Rendiconti Lincei. ScienzeFisiche e Naturali, 2021, 32(3): 625–642.

[2] WU X, LI X, WANG W, *et al*. Integrated metabolomics and transcriptomics study of traditional herb *Astragalus membranaceus* Bge. var. *mongolicus* (Bge.) Hsiao reveals global metabolic profile and novel phytochemical ingredients [J]. BMC Genomics, 2020, 21: 595.

[3] 马艳春, 胡建辉, 吴文轩, 等. 黄芪化学成分及药理作用研究进展[J]. 中医药学报, 2022, 50(4): 92–95.
MA YC, HU JH, WU WX, *et al*. Research progress on chemical constituents and pharmacological effects of *Astragali Radix* [J]. Acta Chinese Medicine and Pharmacology, 2022, 50(4): 92–95.

[4] 赵灵改, 吕学泽, 刘毅, 等. 黄芪中皂苷类成分的研究进展[J].食品安全质量检测学报, 2021, 12(12): 4937–4946.
ZHAO LG, LYU XZ, LIU Y, *et al*. Research progress on saponins in *Astragali Radix* [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2021, 12(12): 4937–4946.

[5] 苏优拉, 陈贵林. 黄芪中黄酮类成分的研究进展[J]. 食品安全质量检测学报, 2021, 12(3): 849–857.
SU YL, CHEN GL. Research progress on flavonoids in *Astragali Radix* [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2021, 12(3): 849–857.

[6] 陈莉萍, 余杰, 陈玲琳, 等. 鲜与干马齿苋药材品质及抗菌作用对比研究[J]. 西华大学学报(自然科学版), 2016, 35(6): 89–91.
CHEN LP, YU J, CHEN LL, *et al*. Comparative study on quality and antibacterial effect of fresh and dry *Portulacae herba* [J]. Journal of Xihua University (Natural Science Edition), 2016, 35(6): 89–91.

[7] 王梦溪, 吴启南, 乐巍, 等. 中药鲜药的应用与现代研究[J]. 中草药, 2015, 46(20): 3125–3130.
WANG MX, WU QN, YUE W, *et al*. Application and modern research of fresh Chinese medicinal materials [J]. Chinese Traditional and Herbal Drugs, 2015, 46(20): 3125–3130.

[8] 孙佳慧, 周援, 孙月娥, 等. 黄芪生物活性成分及在食品中的应用研究进展[J]. 中国食品添加剂, 2023, 34(12): 272–276.
SUN JH, ZHOU Y, SUN YE, *et al*. Research progress on bioactive components of *Astragali Radix* and its application in food products [J]. China Food Additives, 2023, 34(12): 272–276.

[9] 袁红, 张淑芳, 贾绍辉, 等. 黄芪生物活性及其在保健食品中的应用研究进展[J]. 食品科学, 2014, 35(15): 330–334.
YUAN H, ZHANG SF, JIA SH, *et al*. Research progress on bioactivity of *Astragali Radix* and its application in health food [J]. Food Science, 2014, 35(15): 330–334.

[10] 高毅, 霍雨佳, 冯友新, 等. 中药鲜品应用现状及发展[J]. 转化医学杂志, 2018, 7(6): 371–372.
GAO Y, HUO YJ, FENG YX, *et al*. Application status and development of fresh Chinese medicinal materials [J]. Translational Medicine Journal, 2018, 7(6): 371–372.

[11] 杨忠敏, 沈以红, 黄先智, 等. 桑叶生物碱对氧化应激小鼠糖脂代谢异常及肝损伤的改善作用[J]. 食品科学, 2021, 42(7): 156–161.
YANG ZM, SHEN YH, HUANG XZ, *et al*. Improvement effects of mulberry leaf alkaloids on abnormal glucose and lipid metabolism and liver injury in oxidative stress mice [J]. Food Science, 2021, 42(7): 156–161.

[12] ILINA K, VIKTOR B, FRANZ B, *et al*. Flavoalkaloids and flavonoids from *Astragalus monspessulanus* [J]. Journal of Natural Products, 2015, 78(11): 2565–2571.

[13] SINGH AK, PANDEY MB, SINGH UP. Antifungal activity of an alkaloid allosecurinine against some fungi [J]. Mycobiology, 2007, 35(2): 62–64.

[14] DEMIR SC, YILDIRIM AB, TURKER AU, *et al*. Seasonal variation in alkaloid content, phenolic constituent and biological activities of some *Leucojum aestivum* L. populations in Turkey [J]. South African Journal of Botany, 2022, 147: 713–723.

[15] NANTONGO JS, ODOI JB, ABIGABA G, *et al*. Variability of phenolic and alkaloid content in different plant parts of *Carissa edulis* Vahl and *Zanthoxylum chalybeum* Engl [J]. BMC Research Notes, 2018, 11: 125.

[16] HOSSAI N, MOHAMMAD B, NIGEL P, *et al*. Effect of drying methods on the steroidal alkaloid content of potato peels, shoots and berries [J]. Molecules, 2016, 21(4): 403.

[17] 李思源, 李培瑜, 刘弈彤, 等. 代谢组学在食品科学中的应用进展[J]. 食品与发酵工业, 2021, 47(5): 252–258.
LI SY, LI PY, LIU YT, *et al*. Application progress of metabolomics in food science [J]. Food and Fermentation Industries, 2021, 47(5): 252–258.

[18] ZIEGLER J, FACCHINI JP. Alkaloid biosynthesis: metabolism and trafficking [J]. Annual Review of Plant Biology, 2008, 59(1): 735–769.

[19] 耿君君, 谢永康, 孟建升, 等. 基于熵权逼近理想排序法评价干燥方式对黄芪品质的影响[J]. 食品安全质量检测学报, 2025, 16(9): 230–239.
GENG JJ, XIE YK, MENG JS, *et al*. Fragmentation pattern of flavonoids and saponins in *Astragali Radix* by mass spectrum based on ultra performance liquid chromatography-quadrupole-time of flight-mass spectrometry [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2025, 16(9): 230–239.

[20] 徐春飞, 陈赛雅, 李梦婧, 等. 基于 UPLC-Q-TOF/MS 和分子网络研究黄芪蜜炙前后成分变化[J]. 国际中医中药杂志, 2024, 46(3): 353–362.
XU CF, CHEN SY, LI MJ, *et al*. Study on component changes of *Astragali Radix* before and after honey-processing based on UPLC-Q-TOF/MS and molecular networking [J]. International Journal of Traditional Chinese Medicine, 2024, 46(3): 353–362.

[21] JÖRG Z, PETER JF. Alkaloid biosynthesis: Metabolism and trafficking [J]. Annual Review of Plant Biology, 2008, 59: 735–769.

[22] NANCY AE, MARIAN D, MICHAELl A, *et al*. A metabolomics approach to evaluate the effect of lyophilization versus oven drying on the chemical composition of plant extracts [J]. Scientific Reports, 2021, 11: 22679.

[23] OBATA T, FERNIE AR. The use of metabolomics to dissect plant responses to abiotic stresses [J]. Cellular and Molecular Life Sciences: CMLS, 2012(19): 69.

[24] ECHEVERRÍA J, SERGIO ME, HERMANN M. Unusual alkaloids of the highland species *Astragalus cryptanthus* Wedd. (Fabaceae) [J]. Natural Product Research, 2017, 31(1): 89–92.

[25] XU Y, WANG X, SA K, *et al*. Alkaloids from the roots of *Sophora* flavescens and their anti-tumor activity [J]. Fitoterapia, 2023: 171. DOI: 10.1016/j.fitote.2023.105685

[26] ZIPING A, YUE Z, XINGYI L, *et al*. Widely targeted metabolomics analysis to reveal transformation mechanism of cistanche deserticola active compounds during steaming and drying processes [J]. Frontiers in Nutrition, 2021, 8: 742511–742511

[27] WU Q, YAN Q, JIANG L, *et al*. Metabolomics analysis reveals metabolite changes during freeze-drying and oven-drying of *Angelica dahurica* [J]. Scientific Reports, 2023, 13(1): 6022.

[28] 郑尧, 雷蕾, 艾娇, 等. 人参鲜药干制/复水过程水分状态与化学成分变化规律研究[J]. 中草药, 2019, 50(14): 3302–3312.
ZHENG Y, LEI L, AI J, *et al*. Study on moisture state and chemical component changes during drying/rehydration process of fresh ginseng [J]. Chinese Traditional and Herbal Drugs, 2019, 50(14): 3302–3312.

[29] MENDEL F. Potato glycoalkaloids and metabolites: Roles in the plant and in the diet [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2006, 54(23): 8655–8681.

[30] FLEISCHMAN JG, KLEINMEIER D, LUNZER J, *et al*. Differences in experimental outcomes from thermal processing: the case of poppy seeds and opium alkaloids [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2021, 69: 7499–7500.

(责任编辑: 蔡世佳　韩晓红)