

黄芪不同采收期有效成分含量比较

唐文文¹, 李国琴², 晋小军²

(1. 铜仁职业技术学院, 贵州 铜仁 554300; 2. 甘肃农业大学 农学院, 甘肃 兰州 730070)

摘要:以黄芪为试材, 采用紫外-可见分光光度法, 分析了 5 个不同采收期的 3 年生蒙古黄芪的多糖、总皂苷、总黄酮含量, 探讨蒙古黄芪的适宜采收期。结果表明: 10 月上旬采收的黄芪多糖含量最高, 达 7.79%, 8 月上旬采收的黄芪黄酮含量、皂苷含量最高, 分别为 3.18% 和 0.568%。3 年生蒙古黄芪的适宜收获期为 9 月上旬至 10 月初, 此期间采收的黄芪品质较佳。

关键词:黄芪; 采收期; 多糖; 黄酮; 皂苷; 分光光度法

中图分类号:S 567.5+3 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2015)07-0138-04

黄芪(*Radix astragali*)为豆科多年生草本植物蒙古黄芪或膜荚黄芪的干燥根, 味甘, 性微温, 归脾、肺经, 具有补气升阳、益卫固表、利水消肿、托疮生肌之功效, 可煎服、生用或蜜炙用^[1]。黄芪主要含有多糖、皂苷、黄酮、氨基酸及微量元素等有效成分^[2], 其中黄芪多糖(astragalus polysaccharides, APS)具有增强机体免疫功能、调节血糖含量、保护心血管系统、加速修复受放射线损伤的机体等作用。黄芪的皂苷更是黄芪主要活性成分之一, 据报道, 至今已从黄芪分离鉴定了 40 余种黄芪皂苷, 主要有乙酰黄芪皂苷、异黄芪皂苷、黄芪皂苷 I~Ⅷ、棉毛黄芪皂苷、大豆皂苷和胡萝卜皂苷等^[3-4]。其中黄芪皂苷 IV 又称黄芪甲苷, 是《中国药典》2005 年版用以控制其药材质量的指标成分。

中药材种类繁多, 药用部位不同, 其最佳采收期也有差异。所谓最佳采收期是在有效成分含量最高、外观性状如形、色、质地、大小等^[5]最佳时采收, 才能得到优质的药材, 达到较好的效益。可是目前对野生药材的滥采乱挖, 导致资源日益枯竭, 以致有些药农为了多采挖野生药材, 甚至不分时节或先于采收季节采挖药材, 致使药材质量受到严重影响, 极大地影响了临床的疗效。即使人工栽培的药材, 由于缺乏对有效成分含量的跟踪研究, 一味追求产量, 忽视了质量因素, 一定程度上影响了药材的质量。现研究了不同

采收期的蒙古黄芪多糖、总皂苷、总黄酮等成分, 探讨了采收黄芪药材的适宜时间。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试 3 年生蒙古黄芪采自于甘肃渭源, 经甘肃农业大学晋小军研究员和陈垣教授鉴定为豆科植物蒙古黄芪(*Astragalus membranaceus*)。

仪器: LA-230S 型电子天平(北京赛多利斯仪器公司)、JJ-2 高速组织捣碎机(江苏中大机械厂)、RE52-98 型旋转蒸发器(上海亚荣生化仪器厂)、KQ-500B 型超声波发生器(昆山市超声仪器有限公司)、SHZ-3 型循环水真空泵(上海亚荣生化仪器厂)、UV-2100 双光束紫外可见分光光度计(日本, 岛津)、LDZ4-0.8 低速自动平衡微型离心机(北京医用离心机厂)。

药剂: 浓硫酸、苯酚、95%乙醇、三氯乙酸、正丁醇、粉末状活性炭、氢氧化钙、盐酸、碳酸氢钠、锌粉等, $\text{AlCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 、NaOH, 试剂均为分析纯(天津市德恩化学试剂有限公司)。对照品: 葡萄糖、芸香苷、黄芪甲苷, 均购自中国药品生物制品检定所。试验用水为 Millipore 超纯水器所制超纯水。苯酚溶液: 称取苯酚 100 g 于烧瓶中, 加 0.10 g 锌粉、0.05 g NaHCO_3 蒸馏, 收集 182℃ 馏分, 称取该馏分 5.00 g, 加蒸馏水 95.0 mL 置棕色瓶中备用, 得浓度为 5.0% 的苯酚溶液。

1.2 试验方法

黄芪从 7 月 10 日开始采收, 每隔 1 个月采收 1 次, 至 11 月 10 日共采收 5 次。采收后的药材洗净、晾干, 待用。

1.3 项目测定

1.3.1 黄芪多糖含量测定 葡萄糖标准曲线的绘制: 配

第一作者简介:唐文文(1987-), 女, 硕士, 讲师, 研究方向为药用植物资源与利用。E-mail: tangwenwen6362@163.com.

责任作者:晋小军(1965-), 女, 硕士, 研究员, 研究方向为药用植物。E-mail: jingxj@gsau.edu.cn.

基金项目:甘肃省中药材产业攻关专项资助项目(GYC-09-09)。

收稿日期:2014-11-19

制 0.600 mg/mL 的葡萄糖标准溶液 50.0 mL,依次吸取该溶液 1.00、2.00、3.00、4.00、5.00、6.00、7.00 mL,分别置于 7 个 50 mL 容量瓶中,用蒸馏水定容,摇匀。再移取该系列标准溶液各 2.00 mL,分别置于 7 个试管中,同时吸取 2.00 mL 蒸馏水作为空白,然后分别加入 1.50 mL 5% 苯酚溶液,混合均匀后,快速各加入 6.50 mL 96% 硫酸溶液(控制在 15~20 s 完成),置沸水浴中反应 15 min,然后室温冷却 30 min,溶液颜色变为橙黄色,参比溶液不显色。用 UV-2100 双光束紫外-可见分光光度计扫描葡萄糖标准溶液显色后的吸收光谱,然后在 $\lambda_{\max}=490$ nm 处,测定系列标准溶液的吸光度。绘制标准曲线,得回归方程: $A=0.0672c-0.0046$, 相关系数 $r=0.9992$ 。黄芪多糖的提取与纯化:取黄芪粉 (5.0 ± 0.0001) g 置于 150 mL 锥形瓶中,加入 60 mL 蒸馏水,用饱和石灰水调 pH=9.0^[6-7],在 80℃,超声波提取 20 min 后,用 4 层纱布抽滤,收集滤液。药渣按同法重复提取 2 次并抽滤,合并 3 次滤液,用旋转蒸发器浓缩至一定体积。加入 95% 乙醇至含醇 80%,静置过夜,倾去上清液,沉淀中再加入 95% 乙醇至含醇 80%,静置过夜,沉淀完全。再将沉淀离心分离,收集沉淀,得粗多糖。上述多糖加少量水溶解,以三氯乙酸-正丁醇法^[8-9]去除蛋白质 4 次后,在多糖溶液中加入活性炭脱色,再用 95% 乙醇沉淀、离心分离,收集沉淀即得精制的黄芪多糖。将精制的黄芪多糖用蒸馏水溶解,并定容 100.0 mL,摇匀,从中移取 1.00 mL 稀释定容 100.0 mL,备用。取精制的黄芪多糖稀释液 2.00 mL 于试管中,显色方法、条件及测定同葡萄糖系列标准溶液。其它样品用同样的方法显色并测定。将测得试样溶液的吸光度(Abs)代入标准曲线的回归方程,计算出浓度。根据稀释倍数得多糖含量的计算关系如下: $W(\text{mg/g}) = 5c/m_{\text{样}}$ 。式中: c -黄芪多糖的测定浓度, $\mu\text{g/mL}$; $m_{\text{样}}$ -黄芪试样的质量, g。

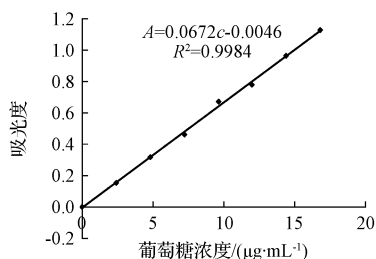


图1 葡萄糖溶液显色后的标准曲线

Fig. 1 The standard curve of glucose solution coloration

1.3.2 黄芪总皂苷含量测定 黄芪试样溶液的制备:称取黄芪粉 (5.0 ± 0.0001) g 置于 150 mL 锥形瓶,加 20 mL 氨水润湿,加再 50 mL 正丁醇,超声提取 30 min,过滤,收集滤液。药渣再加 30 mL 正丁醇超声^[10]提取 2 次,每

次 20 min,过滤,合并 3 次滤液用水萃取 3 次,每次 30 mL,弃去水液,浓缩回收正丁醇至干。残渣用无水乙醇溶解,转入 10 mL 容量瓶定容,备用。标准曲线的绘制:精密称取黄芪甲苷标准品 6.2 mg,置于 10 mL 容量瓶中,用无水乙醇溶解定容,得对照品溶液。吸取该溶液 0.10、0.20、0.40、0.60、0.80、1.00 mL,分别注入 10 mL 容量瓶中,各加入无水乙醇至 1.00 mL,再分别加入 1.00 mL 8% 香草醛试剂,置入冰水浴缓缓加入 8.00 mL 72% 的硫酸,摇匀,放入 60℃ 水浴中,保温 20 min,取出室温冷却,摇匀。以试剂空白为参比,测定吸收光谱。于最大吸收波长^[11] $\lambda_{\max}=542$ nm 处,测定各溶液的 Abs,绘制标准曲线。得回归方程: $A=0.0238c-0.0695$, 相关系数 $r=0.9996$ 。重复性试验:制备 2009 年 10 月采收的黄芪试液 5 份,取该溶液 0.20 mL,测定吸收光谱。试样溶液在 542 nm 处,也有最大吸收,在此波长处,测定 Abs,代入标准曲线的回归方程,计算浓度。根据试样溶液总体积及稀释倍数计算黄芪皂苷含量,得 RSD 为 3.4%,精密度良好。稳定性试验:精密吸取黄芪甲苷标准液,按线性关系考察项下方法操作,隔一定时间测定一次吸光度结果表明,在 30 min 内,吸光度值变化不明显,RSD 值小于 1.4%。将测得的试样溶液的 Abs 代入回归方程,计算出浓度。根据稀释倍数计算黄芪皂苷的含量关系式如下: $W(\text{mg/g}) = c/2m_{\text{样}}$ 。式中: c -黄芪皂苷的测定浓度, $\mu\text{g/mL}$; $m_{\text{样}}$ -黄芪试样的质量, g。

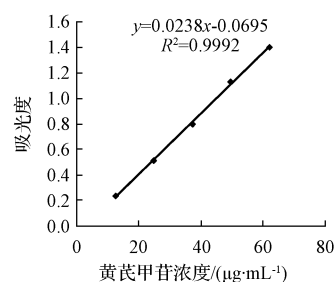


图2 黄芪甲苷溶液的标准曲线

Fig. 2 The standard curve of astragaloside

1.3.3 黄芪总黄酮含量测定 黄芪试样溶液的制备:称取黄芪粉 (0.4 ± 0.0001) g 置于 150 mL 锥形瓶中,加入 16 mL 70% 乙醇,浸提 3 h,室温下超声波提取^[12] 30 min,过滤,收集滤液。药渣再加 12 mL 70% 乙醇超声提取 2 次,每次 20 min,过滤,合并 3 次滤液浓缩至少量体积,转入 25 mL 容量瓶定容,备用。标准曲线的绘制:准确称取芸香苷 10.4 mg,用 70% 乙醇溶解并定容 50.0 mL,吸取该溶液 0.20、0.40、0.60、0.80、1.00、1.20 mL,分别置于 7 个 10 mL 量瓶中,各加入 3.00 mL 0.10 mol/L AlCl_3 及 5.00 mL 1.0 mol/L NaOH,用 70% 乙醇定容,

反应 10 min。以试剂空白为参比,测定吸收光谱,并在 $\lambda_{\max}=225\text{ nm}$ 处,测定各溶液的 Abs,绘制标准曲线。得回归方程: $A=0.0467c+0.0182$, 相关系数 $r=0.9993$ 。重复性试验:制备 2009 年 7 月采收的黄芪试液 5 份,取该溶液 0.40 mL,加入 AlCl_3 及 NaOH ,用 70%乙醇定容至 10.0 mL,反应 10 min。测定吸收光谱,试样溶液在 225 nm 处,也有最大吸收,测定此波长处的 Abs,5 次测定的 $RSD=4.1\%$ 。加样回收率试验:取已知黄酮含量的黄芪样品及芸香苷 0.50 mL 置于 10 mL 容量瓶,同“1.3.2”方法显色,测定吸光度。平均回收率为 98.62%, $RSD=2.3\%$ 。稳定性试验:反应 10 min,测定 Abs,每 5 min 测定 1 次,30 min 内吸光度基本不变。黄芪浸出物测定:按《中国药典》2005 年版,中药材品质鉴定的基本标准,称取 $(4.0\pm0.01)\text{ g}$ 黄芪药粉,置于 150 mL 干燥锥形瓶中,加入 100 mL 蒸馏水,密封。浸提 24 h,取滤液 20.0 mL 蒸干水分,再置于烘箱干燥至恒重,冷却后称量。每个试样做 3 个平行。将测得试样溶液的 Abs 代入标准曲线的回归方程,计算出浓度。根据稀释倍数及样品溶液的总体积,得总黄酮含量的计算关系如下: $W(\text{mg/g})=5c/8m_s$ 。式中: c -黄酮的测定浓度, $\mu\text{g/mL}$; m_s -黄芪试样的质量, g 。黄芪浸出物的计算关系是如下: $\text{浸出物}(\%)=m/m_{\text{样}}\times 100\%$ 。式中: m -黄芪的浸出物质量, g ; $m_{\text{样}}$ -黄芪试样的质量, g 。

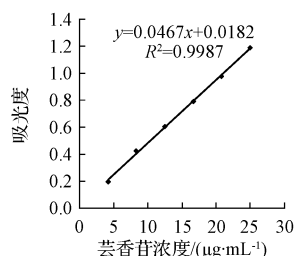


图 3 芸香苷溶液显色后的标准曲线

Fig. 3 The standard curve of rutin solution coloration

2 结果与分析

2.1 黄芪中黄芪多糖含量

由表 1 可知,5 个采收期的黄芪多糖含量为 5.98%~7.79%。其中,10 月上旬采收的黄芪多糖的含量最高,达 7.79%,其次是 11 月上旬,7 月上旬采收的黄芪多糖含量最低,为 5.98%。黄芪是极耐寒的植物,在 10 月以后地上茎叶受霜冻后,其根部多糖含量上升,提高植物的抗寒能力。由此可见,基于黄芪多糖应用为目的,在

表 1 不同采收期的黄芪有效成分比较

黄芪采收期	7 月上旬	8 月上旬	9 月上旬	10 月上旬	11 月上旬
多糖含量/%	5.98	6.42	6.73	7.79	7.44
黄酮含量/%	3.15	3.18	3.08	2.88	2.86

10 月上旬至 11 月上旬期间采收黄芪较好。

2.2 黄芪总黄酮含量

由表 1 可知,8 月上旬采收的黄芪,黄酮含量最高,为 3.18%,11 月上旬采收的黄芪,黄酮含量最低,为 2.86%,各采收期的黄芪总黄酮含量差异不明显。

2.3 黄芪总皂苷、浸出物含量

由表 2 可知,5 个采收期的黄芪总皂苷含量为 0.431%~0.568%。其中,11 月上旬采收的黄芪皂苷含量最低,为 0.431%。而 7 月上旬至 9 月上旬 3 个采收期的黄芪皂苷含量几乎没有差别,可能是在此期间,天气炎热,正是各种植物生长的旺盛期,故皂苷含量较高。之后,皂苷呈现下降趋势。由表 2 可知,9 月上旬至 10 月上旬 2 个采收期的黄芪浸出物含量高。

表 2 不同采收期的黄芪总皂苷、浸出物含量

黄芪采收期	7 月上旬	8 月上旬	9 月上旬	10 月上旬	11 月上旬
黄芪皂苷含量/%	0.561	0.568	0.563	0.535	0.431
浸出物含量/%	18.5	19.0	22.2	23.7	19.3

3 结论

通过不同采收期的黄芪各主要成分测定结果可以看出,在 9—10 月初采收的黄芪多糖含量为 6.73%~7.79%,皂苷含量为 0.535%~0.563%,黄酮含量为 2.88%~3.08%,浸出物含量为 22.2%~23.7%,各有效成分的含量都达到较高水平。

参考文献

- [1] 韩真贤,张宇,张云杰,等.黄芪多糖三种提取工艺比较[J].黑龙江医药科学,2009(4):68-70.
- [2] 中医药管理局《中华本草》编委会.中华本草[M].上海:上海科学技术出版社,1999.
- [3] 贺正全,王宝琴.蒙古黄芪化学成分分离鉴定[J].药学报,1990,25(9):694-698.
- [4] 潘飞,冯毓秀.黄芪研究的概况[J].国外医学,1995,10(3):110.
- [5] 中华人民共和国卫生部药典委员会.中华人民共和国药典[M].北京:北京人民出版社,2005.
- [6] Tsim K. Chemical analysis of *Radix astragali* (Huangqi) in China, a comparison with adulterants and seasonal variations [J]. Agric Food Chem, 2002,50(17):4861-4866.
- [7] 林慧彬,路俊仙,陈兵,等.我国不同种质黄芩多糖含量的比较研究[J].中华中医药杂志,2010(1):149-151.
- [8] 于晓辉,万仁玲,欧阳林山,等.黄芪多糖的分离纯化和含量测定研究进展[J].中国兽药杂志,2008,42(9):50-52.
- [9] 方升平,王维香,雒小龙.川芎多糖除蛋白方法研究[J].时珍国医国药,2009(9):38-41.
- [10] 陈有根,辛敏通,杨滨,等.黄芪药材中黄芪甲苷含量测定方法的改进[J].中国新药杂志,2008,17(21):1857-1859.
- [11] 杜学勤,赵正保.黄芪黄芪皂苷的提取分离工艺研究[J].中成药,2008,30(7):1006-1068.
- [12] 陈晓青,蒋新宇,刘佳佳.中草药成分分离分析[M].北京:化学工业出版社,2006.

AB-8 大孔吸附树脂静态纯化 北五味子木脂素工艺研究

程振玉¹, 宋海燕², 杨英杰¹, 薛俊礼¹, 吉惠杰¹

(1. 吉林化工学院 化学与制药工程学院, 吉林 吉林 132022; 2. 吉林农业科技学院 实验中心, 吉林 吉林 132101)

摘要:以五味子醇甲、五味子酯甲、五味子甲素、五味子乙素和五味子丙素为研究指标,以高效液相色谱作为检测方法,在考察不同类型大孔吸附树脂吸附和解析性能的基础上,对最佳树脂静态纯化北五味子木脂素的工艺进行探索。结果表明:AB-8 大孔吸附树脂纯化效果最佳,最佳吸附条件为:提取液 pH 值为 6.6,5 种木脂素总浓度为 161.815 mg/L,1 g 大孔吸附树脂加入 150 mL 提取液,于 55℃ 振荡吸附 10 h;最佳解析条件为:以无水乙醇为解析剂,在 65℃ 下解析 8 h;在此条件下,5 种木脂素的总含量由粗体物浸膏中的 0.98% 上升到 5.86%。该方法为工业化大量生产北五味子木脂素提供了理论依据和数据支撑。

关键词:高效液相色谱法;北五味子;木脂素;大孔吸附树脂;纯化

中图分类号:R 285 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2015)07-0141-05

五味子(*Schisandra chinensis* Baill)为五味子科五味子属的干燥成熟果实^[1],是我国著名的传统滋补性中药,最早记录在“神农本草经”中,被列为上品,其应用已有 2 000 多年的历史^[2]。五味子醇甲、五味子甲素和五味子乙素等木脂素类化合物是五味子最主要的化学成分^[3-4],现代药理研究表明其具有抗氧化、抗肿瘤、抗癌症、抗衰老等活性,在中枢神经系统、消化系统、泌尿系

统、生殖系统以及心血管系统等方面具有很强的药理作用^[5-7]。但目前对木脂素的提取研究主要集中在回流法萃取方面^[8-10],该法存在提取时间长、能耗大、溶剂耗量大等一系列不足之处;特别地对粗提液的浓缩物不做任何处理,致使浸膏中木脂素含量较低,严重地限制了五味子药用资源的充分利用。因此建立一种高效率提取木脂素并对其进行纯化的方法变得越来越有意义。

超声波-微波协同萃取技术将超声波与微波 2 种作用相结合,充分利用超声波振动的空化作用和微波的高能作用,具有溶剂用量少、提取时间短、提取率高等特点^[11];高效液相色谱法操作简单、分析速度快、灵敏度高、结果准确、可靠^[12]。大孔吸附树脂是 20 世纪 60 年

第一作者简介:程振玉(1986-),男,硕士,助教,研究方向为天然产物化学。E-mail:844503608@qq.com.

责任作者:杨英杰(1955-),男,本科,教授,研究方向为天然产物化学。E-mail:yanghjm@163.com.

收稿日期:2014-11-10

Comparison of the Effective Components on Different Harvesting Periods of *Radix astragali*

TANG Wen-wen¹, LI Guo-qin², JIN Xiao-jun²

(1. Tongren Vocational Institute, Tongren, Guizhou 554300; 2. Agricultural College, Gansu Agricultural University, Lanzhou, Gansu 730070)

Abstract: Taking *Radix astragali* as test materials, the contents of polysaccharides, saponian and total flavonoids of three-year-old *Radix astragali* were determined by using UV-Vis spectrum, to discuss the suitable harvest time of *Radix astragali*. The results showed that the samples of *Radix astragali* harvested from the beginning of October had the highest contents of polysaccharide, which was 7.79%. The sample harvested from the beginning of August had the highest contents of saponian and total flavonoids, which were 3.18% and 0.568% respectively. The suitable harvesting period of triennial *Radix astragali* was from the beginning of September to the beginning of October. *Radix astragali* harvested during this period had the best quality.

Keywords: *Radix astragali*; harvesting period; polysaccharides; flavonoids; saponins; spectrophotometer