

基于HPLC结合化学计量学研究黄芪茎叶的最适采收期

李小兰, 高欣缘, 孙杰, 魏赫男, 郭丽丽

Study on the Optimal Harvest Time of Stems and Leaves of *Astragalus membranaceus* Based on HPLC and Chemometrics

LI Xiaolan, GAO Xinyuan, SUN Jie, WEI Henan, and GUO Lili

在线阅读 View online: <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2023030267>

您可能感兴趣的其他文章

Articles you may be interested in



关注微信公众号, 获得更多资讯信息

李小兰, 高欣缘, 孙杰, 等. 基于 HPLC 结合化学计量学研究黄芪茎叶的最适采收期 [J]. 食品工业科技, 2024, 45(4): 229–237. doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2023030267

LI Xiaolan, GAO Xinyuan, SUN Jie, et al. Study on the Optimal Harvest Time of Stems and Leaves of *Astragalus membranaceus* Based on HPLC and Chemometrics[J]. Science and Technology of Food Industry, 2024, 45(4): 229–237. (in Chinese with English abstract). doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2023030267

· 分析检测 ·

基于 HPLC 结合化学计量学研究黄芪茎叶的最适采收期

李小兰, 高欣缘, 孙 杰, 魏赫男, 郭丽丽*

(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: 建立黄芪茎叶中 7 种黄酮类和 3 种皂苷类成分含量的 HPLC 同步检测方法, 研究不同采收期黄芪茎叶中活性成分动态变化规律, 明确黄芪茎叶的最适采收期。方法: 对色谱条件进行方法学考察, 确定 10 种活性成分的 HPLC 同步检测方法, 进而测定不同采收期黄芪茎叶中 10 种活性成分的含量, 再结合聚类分析和主成分分析以及熵权 TOPSIS 法分析上述成分含量的动态变化与分布规律。结果: 10 种成分随不同采收期均呈显著变化 ($P<0.05$), 其中黄芪茎中黄酮总量在 8 月下旬~9 月较高, 皂苷总量在 8 月上旬达到最高; 黄芪叶中黄酮总量在 8 月~9 月上旬较高, 皂苷总量变化趋势不明显。化学计量学分析结果显示, 黄芪茎和叶中的化学成分含量在 8 月前后均有明显不同, 进一步的熵权 TOPSIS 分析结果表明, 8~9 月的黄芪茎质量综合评价较高, 8 月的黄芪叶质量综合评价最高, 建议黄芪茎叶适宜的采收期为 8 月下旬。结论: 所建立的 HPLC 方法可用于黄芪茎叶中黄酮类和皂苷类活性成分的同步检测, 所明确的黄芪茎叶最适采收期可为黄芪茎叶的质量控制和精深开发利用提供科学依据。

关键词: 黄芪茎叶, 采收期, 高效液相色谱法, 化学计量学, 熵权 TOPSIS 法

中图分类号: TS207.3

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2024)04-0229-09

DOI: 10.13386/j.issn1002-0306.2023030267



本文网刊:

Study on the Optimal Harvest Time of Stems and Leaves of *Astragalus membranaceus* Based on HPLC and Chemometrics

LI Xiaolan, GAO Xinyuan, SUN Jie, WEI Henan, GUO Lili*

(College of Traditional Chinese Medicine and Food Engineering, Shanxi University of Chinese Medicine, Jinzhong 030619, China)

Abstract: Objective: To establish the HPLC method for simultaneous content determination of seven flavonoids and three saponins ingredients in the stems and leaves of *Astragalus membranaceus*, and to investigate its dynamic variation rules in different harvest time so as to determine the appropriate harvest time. Methods: After conducting the methodological investigation of chromatographic conditions, the HPLC detection method of ten active components was established. Then the method was used to determine the content of ten active components in the stems and leaves of *Astragalus membranaceus* in different harvest time. Finally, the cluster analysis, principal component analysis and entropy weight TOPSIS method were used to analyze the dynamic variation and distribution of the above components. Results: There were significant differences in the contents of the ten ingredients in the aerial parts of *Astragalus membranaceus* during different harvest periods ($P<0.05$). The total content of flavonoids in stems was higher from late August to September, and that of saponins was reached in early August. In contrast, the highest total amount of flavonoids in leaves was shown in the period

收稿日期: 2023-03-27

基金项目: 山西省应用基础研究计划项目 (201901D211544); 山西中医药大学科技创新能力培育计划“太行本草”专项项目 (2022PY-TH-04); 山西省研究生科研实践创新项目 (2023KY687); 山西中医药大学研究生创新创业项目 (2023CX044)。

作者简介: 李小兰 (1998-), 女, 硕士研究生, 研究方向: 药食同源中药功能产品研究, E-mail: lx120210903@163.com。

* 通信作者: 郭丽丽 (1984-), 女, 博士, 副教授, 研究方向: 活性物质研究及功能食品开发, E-mail: cauguolili@163.com。

of August to early September, and the amount of total saponins was not obviously changed. The results of chemometrics analysis showed that the contents of chemical components in the stems and leaves of *Astragalus membranaceus* before August were significantly different with that after August. Further entropy weight TOPSIS analysis showed that the stems of *Astragalus membranaceus* from August to September shared better comprehensive quality than other periods, and the leaves of *Astragalus membranaceus* in August presented the best quality, suggesting that the stems and leaves of *Astragalus membranaceus* should be harvested in late August. Conclusion: The HPLC method could be used for the simultaneous content detection of flavonoids and saponins ingredients in the aerial parts of *Astragalus membranaceus*. The suggested harvest period of the stems and leaves of *Astragalus membranaceus* could provide scientific basis for the quality control and further utilization of the stems and leaves of *Astragalus membranaceus*.

Key words: stems and leaves of *Astragalus membranaceus*; harvest time; high performance liquid chromatography; chemometrics; entropy weight TOPSIS method

黄芪茎叶是豆科多年生草本植物蒙古黄芪 *Astragalus membranaceus*(Fisch.)Bge. Var. *mongholicus*(Bge.)Hsiao 或膜荚黄芪 *Astragalus membranaceus*(Fisch.)Bge. 的地上部分。每年伴随黄芪入药根部的采挖,大量的地上茎叶被废弃,如何加强对黄芪茎叶的资源挖掘和精深开发利用逐渐成为研究者关注的重要现实问题^[1]。现代科学研究表明,黄芪茎叶具有与其入药根部类似的多糖类、黄酮类、皂苷类等化学成分^[2],其中黄酮类具有抗炎、抗氧化等活性^[3],而皂苷类具有抗心力衰竭、抗心肌缺血等作用^[4]。黄芪甲苷是黄芪皂苷类成分的代表,毛蕊异黄酮葡萄糖苷是黄芪黄酮类成分的代表,这两种成分也是药典中所规定的黄芪质量控制的指标成分^[5],说明黄酮类和皂苷类是植物黄芪的重要功效成分。

功效成分含量的高低会影响到黄芪茎叶资源的生理活性。分光光度法、高效液相色谱法、高效液相色谱-质谱联用法等可用于黄芪茎叶黄酮类和皂苷类功效成分的定量检测,其中高效液相色谱法仍然是多种单一成分精确定量分析的主流方法^[6-7]。通过应用多波长、一测多评等方法,采用 HPLC 可实现仅单次色谱分离即可高通量同步测定多成分含量的目的,在植物资源质量控制、品质评价、代谢产物研究等方面有着广泛应用^[8-11]。此外,功效成分含量的高低还会受到采收期的影响。相关研究表明膜荚黄芪中毛蕊异黄酮葡萄糖苷、芒柄花苷、芒柄花素和黄芪甲苷的含量随采收期呈动态变化趋势,其中毛蕊异黄酮葡萄糖苷、芒柄花苷和黄芪甲苷含量在 10 月份达到最高,而芒柄花素含量在该月达到最低^[12];对蒙古黄芪的研究也表明黄酮和皂苷含量会受采收期的影响,8 月上旬采收的黄芪中黄酮和皂苷含量最高^[13]。类似地,对其他食药两用植物的研究也表明采收期会影响活性成分的含量,相关研究还证实了采收期会进一步影响植物资源的功效,如秋季采收的牛藤叶提取物抗炎活性最强^[14],8 月下旬采收的五味子果 α -葡萄糖苷酶抑制活性最强^[15]。

由此可见,采收期会影响黄芪茎叶功效成分的含量,从而影响到黄芪茎叶的活性,明确其活性成分随采收期的动态变化规律对于黄芪茎叶原料资源的

质量控制具有重要意义。目前,黄芪茎叶的研究主要集中于活性成分解析和药效作用探索方面,其活性成分随采收期的动态变化规律尚不明确。基于此,本研究采用高效液相色谱法对黄芪茎叶中毛蕊异黄酮葡萄糖苷等 7 种黄酮类成分和黄芪甲苷等 3 种皂苷类成分进行同步含量测定,并结合化学计量学方法分析活性成分随采收期的动态变化规律,以期明确黄芪茎叶的最适采收期,为黄芪茎叶的合理采集、按需采收和最大化利用提供一定科学依据,也为黄芪茎叶的质量控制和合理利用奠定理论基础,对植物黄芪的产业化开发和产业链延伸具有重要意义。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

黄芪茎叶 采收于山西省浑源县黄花滩乡,经山西中医药大学中药资源与鉴定教研室刘计权教授鉴定为蒙古黄芪 *Astragalus membranaceus* var. *mongholicus* 的新鲜茎叶,样品采收后将茎、叶分离,自然阴干,干燥至恒重,粉碎,过 4 号筛后储存。样品信息见表 1;芦丁、毛蕊异黄酮葡萄糖苷、芒柄花苷、毛蕊异黄酮、黄芪皂苷 II HPLC $\geq 98\%$,上海融合医药科技有限公司;金丝桃苷、槲皮苷、山奈酚、大豆皂苷 Bb、黄芪甲苷 HPLC $\geq 98\%$,上海麦克林生化科技有限公司;乙腈、甲醇 色谱纯,赛默飞世尔科技(中国)有限公司;甲醇 分析纯,天津市科密欧化学试剂有限公司;娃哈哈纯净水 杭州娃哈哈集团有限公司。

表 1 样品信息

Table 1 Information of samples

样品编号			样品编号		
茎 叶		采收日期	茎 叶		采收日期
J1	Y1	2022.6.10	J6	Y6	2022.8.25
J2	Y2	2022.6.25	J7	Y7	2022.9.10
J3	Y3	2022.7.10	J8	Y8	2022.9.25
J4	Y4	2022.7.25	J9		2022.10.10
J5	Y5	2022.8.10	J10		2022.10.25

注:10月浑源县的黄芪叶已全部凋落,未采集到该月的黄芪叶。

HH-4 数显恒温水浴锅 金坛市杰瑞尔电器有限公司; AR223CN 电子天平 奥豪斯仪器(常州)有

限公司; GZX-9030MBE 电热鼓风干燥箱 上海博迅实业有限公司医疗设备厂; SB25-120 超声波清洗机 宁波新芝生物科技有限公司; RIGOL L-3000 系列高效液相色谱仪 北京普源精电科技有限公司; Agilent ZORBAX Extend C₁₈ 色谱柱(4.5×250 mm, 5 μm) 安捷伦科技公司。

1.2 实验方法

1.2.1 供试品溶液的制备 精密称取 5 g 干燥黄芪茎叶粉末, 置于 250 mL 圆底烧瓶中, 加入 100 mL 甲醇, 50 °C 下超声提取 1 h, 室温下静置冷却, 过滤。滤液旋蒸至含有少量流动液体后倒出, 放入 60 °C 烘箱中烘干。随即用色谱级甲醇溶解并定容至 5 mL, 稀释适当倍数后, 摇匀得到供试品溶液。

1.2.2 混合对照品溶液的制备 取各待测成分对照品适量, 精密称定, 加色谱级甲醇制成芦丁、毛蕊异黄酮葡萄糖苷、金丝桃苷、槲皮苷、大豆皂苷 Bb、芒柄花苷、毛蕊异黄酮、黄芪甲苷、山奈酚和黄芪皂苷 II 质量浓度分别为 41.00、35.01、39.90、40.42、101.00、11.65、13.50、510.00、41.00、486.00 μg/mL 的混合对照品溶液。

1.2.3 色谱条件 采用 Agilent ZORBAX Extend-C₁₈(4.6×250 mm, 5 μm) 色谱柱, 流动相为乙腈(A)-水(B), 梯度洗脱(0~3 min, 15%→19% A; 3~6 min, 19% A; 6~13 min, 19%→21% A; 13~14 min, 21%→32% A; 14~16 min, 32%→34% A; 16~21 min, 34%→37% A; 21~23 min, 37%→35% A; 23~25 min, 35% A; 25~27 min, 35%→40% A; 27~30 min, 40% A; 30~35 min, 40%→15% A); 流速 0.8 mL/min; 检测波长 203 nm(3 种皂苷)和 254 nm(7 种黄酮); 柱温 25 °C; 进样量 10 μL。

1.2.4 HPLC 方法学考察

1.2.4.1 系统适应性考察 取“1.2.1”和“1.2.2”项下供试品溶液、混合对照品溶液适量, 按“1.2.3”项下色谱条件进样测定。

1.2.4.2 线性关系考察 精密吸取“1.2.2”项下混合对照品溶液 4、8、12、16、20、24 μL^[16-17], 按“1.2.3”项下的色谱条件分别进样测定, 记录 10 种成分吸收峰的峰面积, 以各化合物的进样量(μg)为横坐标(X)、峰面积为纵坐标(Y)绘制标准曲线。

1.2.4.3 精密度考察 精密吸取混合对照品溶液 10 μL, 按“1.2.3”项下的色谱条件连续进样检测 6 次, 记录 10 种成分吸收峰的峰面积。

1.2.4.4 稳定性考察 取同一批黄芪茎叶样品, 按“1.2.1”项下方法制备供试品溶液, 室温下于 0、4、8、12、18、24 h, 按照“1.2.3”项下的色谱条件分别进样检测, 并记录 10 种成分吸收峰的峰面积。

1.2.4.5 重复性考察 取同批次黄芪茎叶样品 6 份, 按“1.2.1”项下方法制备供试品溶液, 按“1.2.3”项下色谱条件进样检测, 并记录 10 种成分吸收峰的峰

面积。

1.2.4.6 加样回收率考察 精密称取已知含量的同批次黄芪茎叶样品粉末适量, 按已知样品含量的 50%、100% 和 150% 分别加入混合对照品溶液^[18], 按“1.2.1”项下方法制备供试品溶液, 然后再按照“1.2.3”项下的色谱条件进行测定, 记录 10 种成分吸收峰的峰面积。

1.2.5 不同采收期样品的含量测定 分别取不同采收期的黄芪茎、叶样品粉末, 按“1.2.1”项下方法制备供试品溶液, 每个样品平行制备三份, 然后按“1.2.3”项色谱条件下进样测定, 将各成分峰面积代入相应回归方程求得成分检出量 a(μg), 然后按下式计算该成分的含量(mg/g)。

$$\text{成分含量(mg/g)} = \frac{a \times n \times V}{0.01 \times m \times 1000} \quad \text{式 (1)}$$

式中, n 为样品溶液稀释倍数; V 为样品溶液体积, mL; 0.01 为检测时进样体积, mL; m 为黄芪茎叶样品取样量, mg。

1.3 数据处理

各试验结果均重复 3 次取平均值并计算误差值, 采用 SPSS 26.0 软件进行显著性差异分析和聚类分析, SIMCA 14.0 软件进行主成分分析, SPSSPRO 在线数据分析平台进行熵权 TOPSIS 法分析, 采用 Origin 2022 软件绘制图表。

2 结果与分析

2.1 HPLC 方法学考察

2.1.1 系统适应性考察 混合对照品和黄芪茎叶样品色谱图结果见图 1。各成分理论塔板数均大于 10000, 分离度均大于 1.5, 说明柱效高, 成分分离度良好, 符合 HPLC 分析要求。

2.1.2 线性关系考察结果 计算出 10 种待测成分的回归方程和线性范围, 结果见表 2。10 种成分相关系数均大于 0.9990, 线性关系良好。

2.1.3 精密度考察结果 分别计算各成分峰面积的 RSD 值, 结果显示芦丁、毛蕊异黄酮葡萄糖苷、金丝桃苷、槲皮苷、芒柄花苷、毛蕊异黄酮、山奈酚、大豆皂苷 Bb、黄芪甲苷、黄芪皂苷 II 的 RSD 值分别为 1.19%、0.40%、1.54%、0.86%、0.30%、0.20%、1.30%、1.37%、0.41%、1.64%, 均小于 2%, 表明仪器精密度良好。

2.1.4 稳定性考察结果 分别计算各成分峰面积的 RSD 值, 结果显示芦丁、毛蕊异黄酮葡萄糖苷、金丝桃苷、槲皮苷、芒柄花苷、毛蕊异黄酮、山奈酚、大豆皂苷 Bb、黄芪甲苷、黄芪皂苷 II 的 RSD 值分别为 0.39%、1.28%、0.41%、0.68%、0.23%、0.40%、1.21%、1.08%、0.84%、1.33%, 均小于 2%, 表明供试品在 24 h 内稳定性良好。

2.1.5 重复性考察结果 分别计算各成分峰面积的 RSD 值, 结果显示芦丁、毛蕊异黄酮葡萄糖苷、金丝

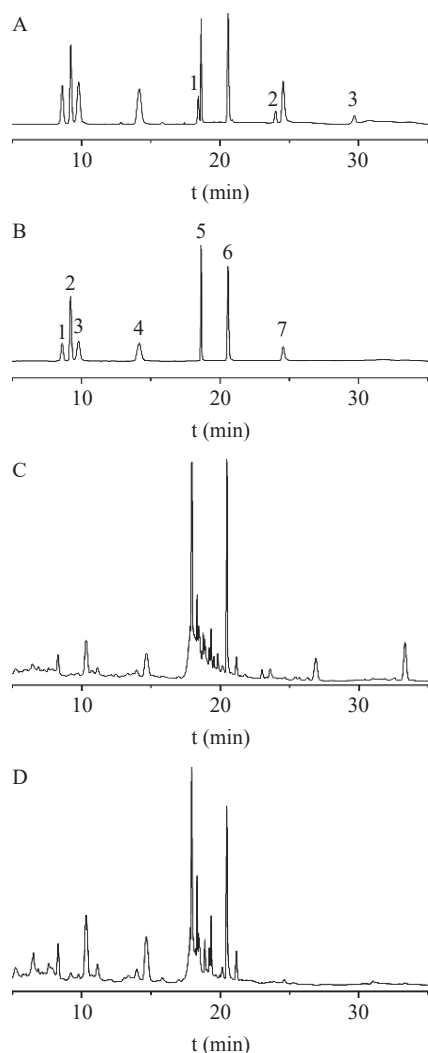


图 1 混合对照品(A: 203 nm; B: 254 nm)及黄芪茎叶样品(C: 203 nm; D: 254 nm)色谱图

Fig.1 HPLC chromatograms of mixed reference substances (A: 203 nm, B: 254 nm) and sample stems and leaves (C: 203 nm, D: 254 nm) of *Astragalus membranaceus*

注: A: 1.大豆皂苷 Bb; 2.黄芪甲苷; 3.黄芪皂苷 II; B: 1.芦丁; 2.毛蕊异黄酮葡萄糖苷; 3.金丝桃苷; 4.槲皮苷; 5.芒柄花苷; 6.毛蕊异黄酮; 7.山奈酚。

表 2 10 种成分的线性回归方程及其线性范围

Table 2 Linear regression equation and linear range of 10 components

序号	待测成分	回归方程	线性范围(μg)	R^2
1	芦丁	$y=556.17x+41.695$	0.164~0.984	0.9991
2	毛蕊异黄酮葡萄糖苷	$y=3111.3x+160.72$	0.140~0.840	0.9992
3	金丝桃苷	$y=735.03x+81.199$	0.160~0.958	0.9996
4	槲皮苷	$y=2437.9x-73.966$	0.162~0.970	0.9997
5	芒柄花苷	$y=8091.9x+80.36$	0.047~0.280	0.9996
6	毛蕊异黄酮	$y=6257.4x-37.298$	0.054~0.324	0.9994
7	山奈酚	$y=1058.8x-35.408$	0.164~0.984	0.9995
8	大豆皂苷Bb	$y=176.97x+11.35$	0.404~2.424	0.9993
9	黄芪甲苷	$y=64.856x-18.937$	2.040~12.240	0.9996
10	黄芪皂苷 II	$y=63.684x-18.125$	1.944~11.664	0.9997

桃苷、槲皮苷、芒柄花苷、毛蕊异黄酮、山奈酚、大豆皂苷 Bb、黄芪甲苷、黄芪皂苷 II 的 RSD 值分别为

0.56%、1.63%、0.91%、0.82%、0.83%、1.33%、1.87%、1.95%、0.82%、1.03%，均小于 2%，表明实验重复性良好。

2.1.6 加样回收率考察结果 计算其加样回收率和回收率的 RSD 值,结果见表 3。平均加样回收率均在 98%~101% 之间;RSD 值均小于 2%,表明所建立的分析方法准确性良好。

表 3 加样回收率试验结果

Table 3 Results of sample recovery rate test

待测成分	加样回收率(%)	平均加样回收率(%)	RSD(%)
芦丁	99.84~100.17	99.85	0.31
毛蕊异黄酮葡萄糖苷	98.75~101.05	99.87	1.15
金丝桃苷	99.21~100.88	99.91	0.87
槲皮苷	99.36~101.58	100.32	1.14
芒柄花苷	99.96~100.28	100.13	0.16
毛蕊异黄酮	99.42~100.52	99.94	0.55
山奈酚	98.14~101.74	99.94	1.71
大豆皂苷Bb	98.14~100.12	99.38	1.09
黄芪甲苷	99.57~101.05	100.20	0.76
黄芪皂苷 II	98.84~101.16	99.96	1.16

2.2 不同采收期黄芪茎叶样品活性成分的含量测定

2.2.1 不同采收期黄芪茎样品活性成分的含量测定

不同采收期黄芪茎中 10 种成分的含量结果见表 4。由表 4 可以看出,10 种成分的含量随不同采收期均有显著变化($P<0.05$),且大部分成分含量呈先上升后下降的趋势,其中,芦丁和山奈酚的含量分别在 9 月 25 日和 8 月 25 日达到峰值;毛蕊异黄酮葡萄糖苷和黄芪皂苷 II 的含量在 9 月 10 日达到峰值;金丝桃苷、大豆皂苷 Bb 和黄芪甲苷的含量在 8 月 10 日达到峰值。其中山奈酚、金丝桃苷和槲皮苷是黄芪茎中含量较丰富的 3 种黄酮类成分,其次为芦丁和毛蕊异黄酮葡萄糖苷,黄芪甲苷是含量最丰富的皂苷类成分其峰值为 $11.491\pm 0.140\text{ mg/g}$ 。

为了更直观的分析讨论上述成分的含量差异,将 10 种成分含量归纳为黄酮醇类(芦丁、金丝桃苷、槲皮苷、山奈酚)、异黄酮类(毛蕊异黄酮葡萄糖苷、芒柄花苷、毛蕊异黄酮)、黄酮总量(7 种黄酮)和皂苷总量(3 种皂苷)4 大类,并分别作图,结果如图 2 所示。由图 2 可知,黄芪茎中皂苷总量在 8 月上旬达到最高,之后开始下降;黄酮醇类和黄酮总量在 8 月下旬达到最高,9 月之后含量有所下降,黄酮醇类含量变化趋势和黄酮总量基本保持一致;异黄酮类含量变化波动不明显。此外,黄芪茎中皂苷总量始终高于黄酮总量,说明茎中含有较丰富的皂苷类成分。

2.2.2 不同采收期黄芪叶样品活性成分的含量

不同采收期黄芪叶中 10 种成分的含量结果见表 5。黄芪叶中 10 种成分的含量随不同采收期也均呈显著变化($P<0.05$),且大部分成分含量整体也呈先上升后下降的趋势,但达峰期明显不同于黄芪茎。其中,黄芪甲苷、山奈酚和芒柄花苷的含量分别在 9 月

表 4 不同采收期黄芪茎中 10 种成分的含量(mg/g)

Table 4 Relative contents of 10 components in stems of *Astragalus membranaceus* at different harvest time (mg/g)

成分	不同采收期的黄芪茎样品									
	J1 (6.10)	J2 (6.25)	J3 (7.10)	J4 (7.25)	J5 (8.10)	J6 (8.25)	J7 (9.10)	J8 (9.25)	J9 (10.10)	J10 (10.25)
芦丁	0.130±0.014 ^s	0.172±0.006 ^{gh}	0.253±0.004 ^{de}	0.208±0.029 ^{efg}	0.242±0.033 ^{def}	0.343±0.034 ^c	0.481±0.047 ^b	0.639±0.041 ^a	0.317±0.007 ^{cd}	0.155±0.009 ^{gh}
毛蕊异黄酮 葡萄糖苷	—	0.058±0.008 ^c	0.156±0.003 ^b	0.092±0.009 ^{bc}	0.106±0.023 ^{abc}	0.508±0.119 ^{abc}	0.601±0.074 ^{abc}	0.46±0.074 ^{abc}	0.457±0.08 ^{abc}	0.308±0.002 ^a
黄酮类										
金丝桃苷	0.204±0.007 ^c	0.684±0.024 ^{cd}	0.794±0.034 ^{cd}	0.97±0.028 ^{ab}	1.108±0.09 ^a	0.884±0.059 ^{bc}	0.702±0.087 ^{cd}	0.728±0.071 ^{cd}	0.783±0.027 ^{cd}	0.800±0.081 ^{cd}
槲皮苷	0.875±0.074 ^{cd}	1.032±0.100 ^{ab}	0.917±0.049 ^{bc}	1.178±0.069 ^a	0.956±0.05 ^{bc}	0.724±0.039 ^{de}	0.706±0.014 ^c	0.700±0.006 ^c	0.713±0.016 ^c	0.957±0.036 ^{bc}
芒柄花苷	0.241±0.025 ^a	0.090±0.009 ^d	0.105±0.019 ^{cd}	0.106±0.015 ^{cd}	0.148±0.023 ^{bc}	0.088±0.015 ^d	0.039±0.009 ^c	0.039±0.021 ^c	0.171±0.006 ^b	0.145±0.002 ^{bc}
毛蕊异黄酮	0.181±0.02 ^b	0.286±0.021 ^a	0.299±0.024 ^a	0.177±0.009 ^{bc}	0.133±0.008 ^{cd}	0.143±0.012 ^{bcd}	0.122±0.004 ^{de}	0.103±0.024 ^{de}	0.083±0.007 ^c	0.097±0.013 ^{de}
山奈酚	0.25±0.019 ^f	0.460±0.073 ^{ef}	0.619±0.086 ^c	1.024±0.188 ^d	1.815±0.029 ^b	2.567±0.021 ^a	2.257±0.026 ^a	1.843±0.278 ^b	1.374±0.128 ^{cd}	1.699±0.079 ^{bc}
大豆皂苷Bb	0.455±0.028 ^c	0.262±0.027 ^f	0.104±0.006 ^g	0.353±0.044 ^{ef}	3.354±0.036 ^a	3.185±0.076 ^b	1.201±0.076 ^d	1.764±0.072 ^c	1.096±0.042 ^d	1.131±0.011 ^d
皂苷类										
黄芪甲苷	1.061±0.093 ^b	1.092±0.088 ^b	1.848±0.087 ^s	3.962±0.366 ^f	11.491±0.14 ^a	9.334±0.148 ^c	10.224±0.305 ^b	9.65±0.295 ^{bc}	6.993±0.332 ^c	7.896±0.231 ^d
黄芪皂苷Ⅱ	0.929±0.247 ^c	3.048±0.558 ^{bc}	5.716±0.862 ^a	5.903±0.688 ^a	5.227±0.551 ^{ab}	4.996±0.972 ^{ab}	5.933±0.938 ^a	4.924±0.897 ^{ab}	5.745±0.891 ^a	5.807±0.392 ^a
黄酮醇类	1.46±0.076 ^c	2.349±0.167 ^{de}	2.583±0.082 ^{cd}	3.381±0.237 ^{acde}	4.122±0.082 ^{ab}	4.518±0.077 ^a	4.147±0.081 ^{bc}	3.91±0.379 ^{abde}	3.187±0.142 ^{bd}	3.611±0.17 ^{bc}
异黄酮类	0.422±0.041 ^{ab}	0.433±0.02 ^{ab}	0.56±0.039 ^{ab}	0.375±0.016 ^b	0.387±0.016 ^b	0.739±0.11 ^{ab}	0.762±0.086 ^{ab}	0.602±0.077 ^{ab}	0.711±0.071 ^{ab}	0.55±0.013 ^a
黄酮总量	1.882±0.114 ^s	2.782±0.168 ^{efg}	3.143±0.072 ^{df}	3.756±0.253 ^{defg}	4.508±0.075 ^b	5.257±0.100 ^a	4.908±0.165 ^{abc}	4.513±0.455 ^{bcfg}	3.898±0.077 ^{cc}	4.161±0.166 ^{abcd}
皂苷总量	2.444±0.18 ^s	4.402±0.651 ^s	7.668±0.779 ^f	10.218±0.678 ^c	20.073±0.713 ^a	17.515±0.985 ^b	17.358±0.991 ^b	16.339±0.814 ^{bc}	13.834±0.905 ^d	14.835±0.634 ^{cd}

注: “—”代表未检出; 表中同一行不同上标字母代表具有显著性差异($P<0.05$); 括号内数字代表采收日期。

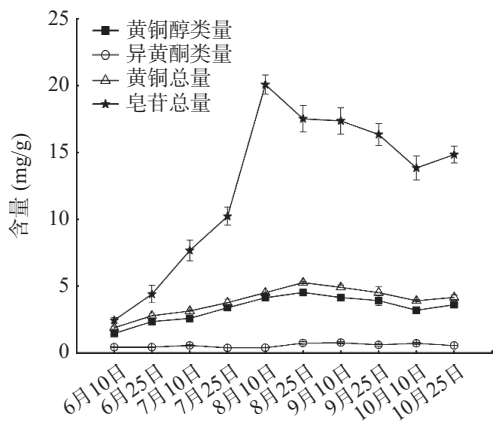


图 2 不同采收期黄芪茎 10 种成分含量差异

Fig.2 Differences in the contents of 10 components in stems of *Astragalus membranaceus* at different harvest times

25 日、9 月 10 日和 6 月 25 日达到峰值; 芦丁和黄芪皂苷Ⅱ的含量在 8 月 10 日达到峰值。芦丁、芒柄花苷和山奈酚是黄芪叶中的优势黄酮类成分, 含量峰值分别为 14.679±0.309、4.313±0.680 和 3.265±0.016 mg/g; 黄芪皂苷Ⅱ是黄芪叶中的优势皂苷类成分, 含量峰值分别为 6.435±0.195 mg/g。

由图 3 可知, 黄芪叶中的皂苷总量在 6 月下旬之后基本趋于平稳, 而黄酮总量在 7 月之后保持增加的趋势, 8 月~9 月上旬含量较高; 黄酮醇类含量变化趋势和黄酮总量基本保持一致, 而 7 月之后异黄酮类含量与黄酮醇类变化趋势正好相反, 这说明黄芪叶中这两类黄酮类化合物的生物合成代谢过程中可能存在竞争作用。有文献表明苯丙烷代谢是黄酮类物质生物合成的主要途径, 经柚皮素这一重要中间产

表 5 不同采收期黄芪叶中 10 种成分的含量(mg/g)

Table 5 Relative content of 10 components in *Astragalus membranaceus* leaves at different harvest time (mg/g)

成分	不同采收期的黄芪叶样品							
	Y1(6.10)	Y2(6.25)	Y3(7.10)	Y4(7.25)	Y5(8.10)	Y6(8.25)	Y7(9.10)	Y8(9.25)
芦丁	2.953±0.241 ^c	8.997±0.848 ^d	7.320±0.575 ^c	10.386±0.044 ^c	14.679±0.309 ^a	13.236±0.685 ^b	13.255±0.44 ^b	11.686±0.045 ^c
毛蕊异黄酮葡萄糖苷	0.554±0.020 ^b	0.296±0.007 ^c	0.137±0.028 ^d	0.851±0.037 ^a	0.126±0.019 ^d	0.349±0.029 ^c	0.597±0.016 ^b	0.565±0.007 ^b
黄酮类								
金丝桃苷	0.675±0.005 ^a	0.144±0.004 ^c	0.054±0.003 ^f	0.056±0.003 ^f	0.461±0.004 ^d	0.552±0.011 ^b	0.059±0.000 ^f	0.514±0.006 ^c
槲皮苷	0.585±0.195 ^{ab}	0.765±0.198 ^a	0.558±0.102 ^{ab}	0.451±0.069 ^{ab}	0.380±0.115 ^b	0.352±0.081 ^b	0.512±0.008 ^{ab}	0.481±0.008 ^{ab}
芒柄花苷	2.995±0.291 ^b	4.313±0.680 ^a	4.161±0.081 ^a	3.357±0.205 ^b	1.886±0.181 ^c	1.801±0.024 ^c	1.503±0.073 ^c	1.357±0.036 ^c
毛蕊异黄酮	0.516±0.052 ^b	0.965±0.145 ^a	1.032±0.008 ^a	0.639±0.098 ^b	0.283±0.027 ^c	0.286±0.015 ^c	0.243±0.031 ^c	0.212±0.016 ^c
山奈酚	0.324±0.001 ^f	0.982±0.011 ^c	1.172±0.011 ^d	1.207±0.006 ^d	1.253±0.011 ^c	2.857±0.024 ^b	3.265±0.016 ^a	2.866±0.022 ^b
大豆皂苷Bb	2.967±0.352 ^c	6.339±0.742 ^a	4.821±0.147 ^b	4.377±0.365 ^b	2.578±0.493 ^{cd}	2.641±0.314 ^c	1.455±0.264 ^d	1.846±0.235 ^{cd}
皂苷类								
黄芪甲苷	0.619±0.117 ^c	0.693±0.041 ^{de}	0.754±0.086 ^{de}	1.355±0.224 ^{cd}	2.060±0.311 ^c	2.788±0.297 ^b	3.241±0.049 ^b	5.925±0.499 ^a
黄芪皂苷Ⅱ	2.386±0.378 ^c	4.590±0.646 ^c	5.520±0.278 ^{ab}	4.680±0.395 ^{bc}	6.435±0.195 ^a	5.634±0.036 ^a	3.562±0.101 ^d	2.688±0.065 ^{de}
黄酮醇类	4.537±0.439 ^c	10.889±0.854 ^{cd}	9.104±0.505 ^d	12.10±0.056 ^{bd}	16.773±0.18 ^{ac}	16.998±0.747 ^{ab}	17.092±0.443 ^{ab}	15.547±0.065 ^{ac}
异黄酮类	4.065±0.337 ^b	5.574±0.832 ^a	5.330±0.056 ^a	4.847±0.340 ^{ab}	2.295±0.190 ^c	2.436±0.067 ^c	2.343±0.073 ^c	2.134±0.049 ^c
黄酮总量	8.601±0.776 ^d	16.463±0.953 ^{abcd}	14.434±0.505 ^c	16.947±0.387 ^{bc}	19.068±0.013 ^{abc}	19.434±0.807 ^{ab}	19.434±0.384 ^a	17.682±0.114 ^{abcd}
皂苷总量	5.972±0.389 ^c	11.622±0.969 ^{abc}	11.095±0.511 ^{ab}	10.412±0.196 ^{ab}	11.073±0.206 ^a	11.062±0.647 ^{ab}	8.258±0.339 ^b	10.46±0.625 ^{ab}

注: 表中同一行不同上标字母代表具有显著性差异($P<0.05$); 括号内数字代表采收日期。

物,再分别经黄酮醇支路和异黄酮支路合成异黄酮类和黄酮醇类化合物,其中异黄酮合酶(IFS)是合成异黄酮类的关键酶,黄酮醇合酶(FLS)是合成黄酮醇类的关键酶^[19]。HU等^[20]研究表明黄芪中IFS基因表达随着开花期的到来(6~7月)有所下降,而FLS的表达有所上升,这说明受关键酶活性变化的影响,开花期后黄酮醇支路的合成代谢将活跃于异黄酮支路,本研究所观察到的7月之后黄芪茎叶异黄酮类与黄酮醇类含量的相反变化趋势与其相一致。

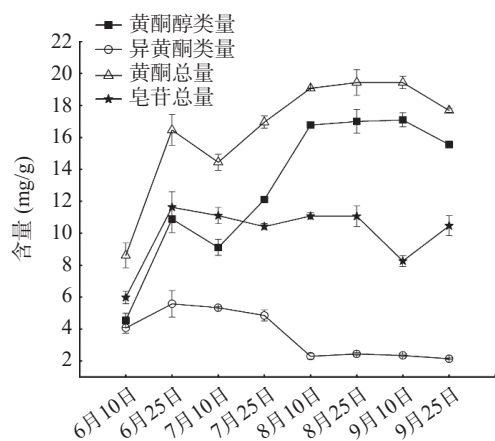


图3 不同采收期黄芪茎10种成分含量差异

Fig.3 Differences in the contents of 10 components in stems of *Astragalus membranaceus* at different harvest times

2.2.3 黄芪茎和叶样品活性成分的含量比较 为了进一步比较黄芪不同部位活性成分的含量差异,将黄

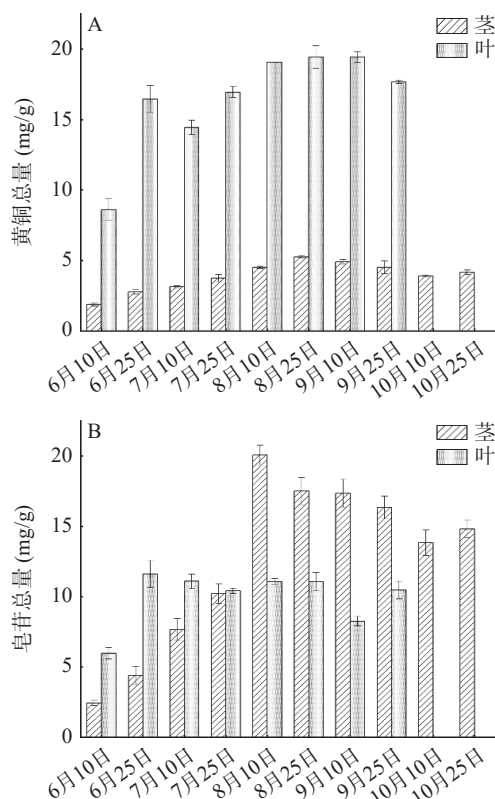


图4 黄芪茎和叶中黄酮总量(A)和皂苷总量(B)的差异

Fig.4 Difference of total flavonoids (A) and saponins (B) in stems and leaves of *Astragalus membranaceus*

芪茎和黄芪叶的黄酮总量和皂苷总量作对比图,如图4所示。因10月黄芪叶枯萎凋落,未采集到10月的黄芪叶,故而主要对6月~9月的两个部位含量进行了对比。每个采收期黄芪叶中的黄酮总量均高于茎中,两个部位黄酮总量均在8月~9月上旬同步达到较高水平;对于皂苷总量来说,7月下旬之前黄芪叶中的含量高于茎中,而进入8月之后茎中皂苷快速增加并显著高于叶中。这说明处于生长旺盛期的黄芪叶中黄酮类成分的积累更多,而黄芪茎中更利于积累皂苷类成分,提示两个部位的合用可同时兼顾这两类活性成分。

2.3 黄芪茎、叶的系统聚类分析(HCA)

为考察黄芪茎、叶中黄酮和皂苷类成分与采收期之间的相互关系,以10批不同采收时间的黄芪茎中10种成分含量和8批不同采收期的黄芪叶中10种成分含量为基准,采用系统聚类分析方法,通过组间连接法,以平方欧氏距离作为样品相似性的判定^[14],分析结果见图5。以欧式距离10为临界点时,10个采收时间的黄芪茎聚集为2类,其中6~7月为一类、8~10月为第二类,说明6~7月黄芪茎中的成分与8月之后的明显不同。8个采收时间的黄芪叶聚集为3类,6月上旬为一类,6月下旬和7月为第二类,8、9月为第三类,说明8月前后黄芪叶中的成分有明显差异。

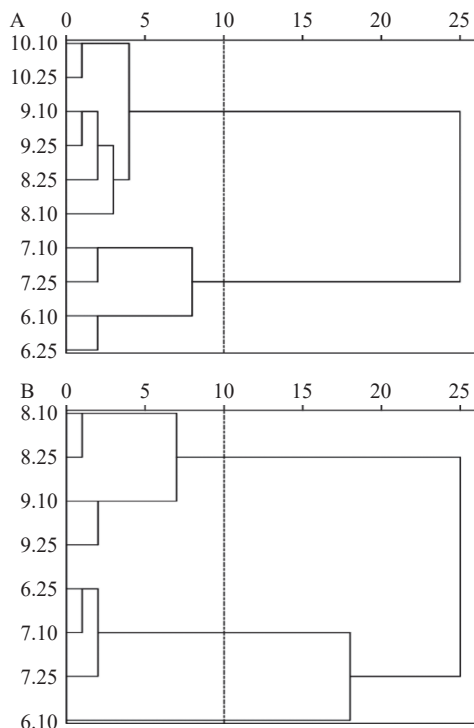


图5 黄芪茎(A)、叶(B)样品聚类分析结果

Fig.5 Cluster analysis results of *Astragalus* stems (A) and leaves (B) samples

2.4 主成分分析(PCA)

为了更直观的比较不同采收期黄芪茎、叶成分的差异,将不同采收期黄芪茎、叶中10种成分的三

次平行测定含量数据导入 SIMCA 14.0 进行主成分分析^[21-23], 结果表明黄芪茎前 3 个主成分的累积解释能力参数值 R^2X 和预测能力参数值 Q^2 分别为 0.858 和 0.516, 即可以用 3 个潜在综合指标来解释 85.80% 的总方差, 基本能反映出不同采收期黄芪茎的主要特征; 黄芪叶前 3 个主成分的累积解释能力参数值 R^2X 和预测能力参数值 Q^2 分别为 0.843 和 0.525, 即可以用 3 个潜在综合指标来解释 84.30% 的总方差, 基本能反映出不同采收期黄芪叶的主要特征。从图 6A 所示的 PCA 得分图中可以看出, 6、7 月黄芪茎分布在纵轴左侧, 8、9、10 月分布在纵轴右侧, 表明 8 月前后黄芪茎中成分含量差异较大。同时, 因 8 月下旬和 9 月样本组间距离较近, 表明采自于此阶段的黄芪茎中的活性成分含量差异较小。从图 6B 中可以看出, 6、7 月黄芪叶分布在纵轴左

侧, 8、9 月分布在纵轴右侧, 且 6 月下旬和 7 月样本分布较为集中, 表明 6 月下旬和 7 月黄芪叶成分含量接近, 8 月和 9 月黄芪叶样本组间距离也较小, 表明 8~9 月黄芪叶的成分组成接近。PCA 分析结果与聚类分析基本一致。分析原因可能与 7 月是浑源的最热月(平均气温~22℃), 而 8 月浑源平均气温(~20℃)开始下降有关, 适宜的温度更利于黄芪这种喜凉植物的生长, 使成分积累速度加快^[24]。温度和水分是影响植物生长及其品质形成的两个重要因素, 黄芪的最适生长季温度为 15℃^[25], 而 8 月份浑源的平均气温为 20℃, 同时 8 月份也是降水高峰期, 能有效促进化学成分的合成和积累。

2.5 熵权 TOPSIS 法分析

为进一步考察黄芪茎叶不同采收期样品的质量高低, 采用 SPSSPRO 在线分析软件对不同采收期黄

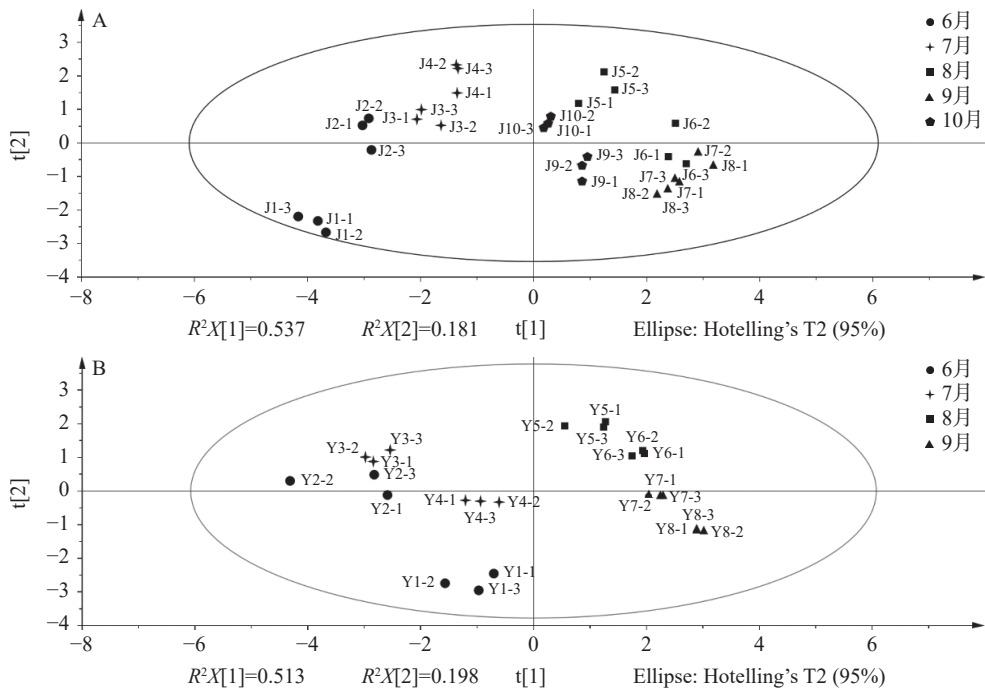


图 6 不同采收期黄芪茎(A)、叶(B)PCA 得分图

Fig.6 PCA scores of stems (A) and leaves (B) of *Astragalus membranaceus* at different harvest times

表 6 不同采收期黄芪茎叶熵权 TOPSIS 法分析结果

Table 6 Analysis results of entropy weight TOPSIS method for stems and leaves of *Astragalus membranaceus* in different harvesting periods

黄芪茎					黄芪叶				
采收期	正理想解 距离(D+)	负理想解 距离(D-)	综合得分指数C	排序	采收期	正理想解 距离(D+)	负理想解 距离(D-)	综合得分指数C	排序
J1(6.10)	0.8354	0.3843	0.3150	10	Y1(6.10)	0.7426	0.5210	0.4122	6
J2(6.25)	0.7611	0.4528	0.3730	9	Y2(6.25)	0.7215	0.5165	0.4171	5
J3(7.10)	0.7123	0.4828	0.4040	8	Y3(7.10)	0.7169	0.5709	0.4433	3
J4(7.25)	0.6756	0.5174	0.4336	6	Y4(7.25)	0.6465	0.4906	0.4314	4
J5(8.10)	0.5294	0.6598	0.5548	1	Y5(8.10)	0.6311	0.6234	0.4969	2
J6(8.25)	0.5521	0.6557	0.5429	2	Y6(8.25)	0.6264	0.6739	0.5182	1
J7(9.10)	0.6368	0.6145	0.4910	3	Y7(9.10)	0.7590	0.4307	0.3620	8
J8(9.25)	0.6352	0.6107	0.4901	4	Y8(9.25)	0.7225	0.4377	0.3772	7
J9(10.10)	0.6628	0.4884	0.4242	7					
J10(10.25)	0.6256	0.4929	0.4406	5					

芪茎、叶进行 TOPSIS 法分析。10 个成分指标均为极大型指标,进行正向化处理后,计算正理想解距离(D⁺)、负理想解距离(D⁻)和相对贴近度(C),其中相对贴近度值越接近 1,表示综合评价越好^[26],结果见表 6。不同采收期黄芪茎质量的综合评价排序为 J5>J6>J7>J8>J10>J4>J9>J3>J2>J1。不同采收期黄芪叶质量的综合评价排序为 Y6>Y5>Y3>Y4>Y2>Y1>Y7>Y8。可见,黄芪茎在 8~9 月的质量较好,黄芪叶在整个 8 月的质量最高,综合考虑黄芪根的采挖时间(9~10 月左右)并结合 HCA 和 PCA 分析结果,同时兼顾黄芪茎叶的生长规律和产量,建议黄芪茎单独部位的采收时间为 9 月,黄芪叶单独部位的采收时间为 8 月;若作为地上部分的整体利用,建议 8 月下旬采收黄芪茎叶较为合适,这样既可满足有效成分含量高峰期与产量高峰期一致的原则,同时也可尽量减少对黄芪根部生长的影响。

3 结论

通过建立可用于黄芪茎叶中毛蕊异黄酮葡萄糖苷等 7 种黄酮类和黄芪甲苷等 3 种皂苷类化合物的 HPLC 同步定量测定方法,揭示了这 10 种活性成分随采收期的动态变化规律,化学计量学和统计学方法分析结果表明黄芪茎在 8~9 月质量较高,叶在 8 月质量较高,因此结合黄芪根部的采挖时间(9~10 月),对黄芪茎、叶单独部位以及茎叶合用部位的采收时间进行了合理建议。建议黄芪茎单独部位的采收时间为 9 月,黄芪叶单独部位的采收时间为 8 月;若作为地上部分的整体利用,建议 8 月下旬采收黄芪茎叶较为合适。后续研究可进一步探讨采收期对黄芪茎叶功效的影响,从而为黄芪茎叶的精准利用和有效开发提供理论基础和科学依据。

参考文献

- [1] CUI Liyan, MA Zhennan, WANG Defu, et al. Ultrasound-assisted extraction, optimization, isolation, and antioxidant activity analysis of flavonoids from *Astragalus membranaceus* stems and leaves[J]. *Ultrasonics Sonochemistry*, 2022, 90: 106190.
- [2] 丛晶男, 张宇, 赵宏, 等. 黄芪茎叶质量标准研究[J]. 中国中医药信息杂志, 2016, 23(11): 94-98. [CONG Jingnan, ZHANG Yu, ZHAO Hong, et al. Study on quality standards of stem and leaf of *Astragali Radix*[J]. *Chinese Journal of Information on Traditional Chinese Medicine*, 2016, 23(11): 94-98.]
- [3] 黄文静, 孙晓春, 张严磊. 基于 PB-CCD 设计的黄芪茎叶总黄酮提取工艺及其抗氧化活性研究[J]. 中国食品添加剂, 2018(5): 105-110. [HUANG Wenjing, SUN Xiaochun, ZHANG Yanlei. Optimization of extracting total flavonoids from stems and leaves of *Astragalus membranaceus* based on PB-CCD design and antioxidant activities evaluation[J]. *China Food Additives*, 2018(5): 105-110.]
- [4] 陈长勋. 中药药理学[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 2006: 1129. [CHEN Changxun. *Traditional Chinese pharmacology* [M]. Shanghai: Shanghai Scientific & Technical Publishers, 2006: 1129.]
- [5] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2020. [Chinese Pharmacopoeia Commission. *Pharmacopoeia of the People's Republic of China* [M]. Beijing: China Medical Science Press, 2020.]
- [6] WANG Yi, MA Yan, TAO Li, et al. Recent advances in separation and analysis of saponins in natural products[J]. *Separations*, 2022, 9(7): 163.
- [7] BIAN Yu, ZHANG Yuan, ZHOU Yu, et al. Progress in the pretreatment and analysis of flavonoids: An update since 2013[J]. *Separation & Purification Reviews*, 2022, 51(1): 11-37.
- [8] KHULUK R H, YUNITA A, ROHAETI E, et al. An HPLC-DAD method to quantify flavonoids in *Sonchus arvensis* and able to classify the plant parts and their geographical area through principal component analysis[J]. *Separations*, 2021, 8(2): 12.
- [9] ZHANG Yan, CAO Cuiling, YANG Zhiwei, et al. Simultaneous determination of 20 phenolic compounds in propolis by HPLC-UV and HPLC-MS/MS[J]. *Journal of Food Composition and Analysis*, 2023, 115: 104877.
- [10] ZHANG Ruiteng, QING Wangwang, YANG Lin, et al. Fingerprint combining with quantitative analysis of multi-components by single marker for quality control of Chenxiang Huaqi tablets[J]. *Phytochemical Analysis*, 2022, 33(3): 335-343.
- [11] WU Linlin, ZHANG Shunnan, ZHOU Lihong, et al. Establishment and validation of the quantitative analysis of multi-components by single marker for the quality control of Qishen Yiqi dripping pills by high-performance liquid chromatography with charged aerosol detection[J]. *Phytochemical Analysis*, 2021, 32(6): 942-956.
- [12] WANG Lingling, XIONG Feng, YANG Lucun, et al. A seasonal change of active ingredients and mineral elements in root of *Astragalus membranaceus* in the Qinghai-Tibet plateau[J]. *Biological Trace Element Research*, 2021, 199: 3950-3959.
- [13] 唐文文, 李国琴, 晋小军. 黄芪不同采收期有效成分含量比较[J]. 北方园艺, 2015(7): 138-141. [TANG Wenwen, LI Guoqin, JIN Xiaojun. Comparison of active ingredient content of *Astragalus* in different harvest periods[J]. *Northern Horticulture*, 2015(7): 138-141.]
- [14] DAN G, LE B V, CHONG W C, et al. Discrimination and quality evaluation of fifteen components in *Stauntonia hexaphylla* leaves from different harvest time by HPLC-PDA-ESI-MS/MS and ELSD coupled with multivariate statistical analysis and anti-inflammatory activity evaluation[J]. *Applied Biological Chemistry*, 2020, 63: 1-11.
- [15] LEE S, YEON S W, TURK A, et al. Variation of lignan content and α -glucosidase inhibitory activity of *Schisandra chinensis* fruit at different maturation stages: Comparison with stem, leaf and seed[J]. *Scientia Horticulturae*, 2022, 293: 110679.
- [16] 张妍, 董琳, 雍婧姣, 等. HPLC 法同时测定黄芪药材中 10 种黄酮类成分的含量[J]. 中国药房, 2017, 28(21): 2970-2973. [ZHANG Yan, DONG Lin, YONG Jingjiao et al. Simultaneous determination of 10 flavonoids in *Astragalus membranaceus* by HPLC[J]. *China Pharmacy*, 2017, 28(21): 2970-2973.]
- [17] 汪涛, 李良群, 严艳芳, 等. 刺梨中质量标记物的提取工艺优化及其含量同时测定[J]. 食品工业科技, 2022, 43(14): 251-260. [WANG Tao, LI Liangqun, YAN Yanfang, et al. Optimization of extraction process and simultaneous content determination of quality marker in *Rosa roxburghii*[J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2022, 43(14): 251-260.]
- [18] 禹亚杰, 彭腾, 尚宁宁, 等. HPLC 法测定不同产地黄芪中芒柄花苷的含量[J]. 中药与临床, 2016, 7(1): 17-19. [YU Yajie, PENG Teng, SHANG Ningning, et al. Content determination of

- Ononin in Huangqi from different producing areas by HPLC[J]. Pharmacy and Clinics of Chinese Materia Medica, 2016, 7(1): 17–19.]
- [19] DONG NaiQian, LIN Hongxuan. Contribution of phenylpropanoid metabolism to plant development and plant–environment interactions[J]. *Journal of integrative plant biology*, 2021, 63(1): 180–209.
- [20] HU Pengfei, Suriguga, ZHAO Ming, et al. Transcriptional regulation mechanism of flavonoids biosynthesis gene during fruit development in *Astragalus membranaceus*[J]. *Frontiers in Genetics*, 2022, 13: 972900.
- [21] 刘天亮, 杨林林, 董诚明, 等. 金银花不同采收期指纹图谱及成分变化情况研究[J]. *中药材*, 2021, 44(10): 2358–2362. [LIU Tianliang, YANG Linlin, DONG Chengming, et al. Study on the fingerprints and composition changes of *Lonicerae japonicae* Flos at different harvest periods[J]. *Journal of Chinese Medicinal Materials*, 2021, 44(10): 2358–2362.]
- [22] WANG Yuanhui, ZHANG Yaru. Variations in compositions and antioxidant activities of essential oils from leaves of *Luodian Blumea balsamifera* from different harvest times in China[J]. *PLoS One*, 2020, 15(6): e0234661.
- [23] ZHENG Wei, ZHOU Ming, CHAI Ruiping, et al. Quality analysis of hawthorn leaves (the leaves of *Crataegus pinnatifida* Bge. var major N. E. Br) in different harvest time[J]. *Phytochemical Analysis : PCA*, 2022, 33(7): 1147–1155.
- [24] 李波, 赵倩, 关瑜, 等. 产地对黄芪主产区形成的影响[J]. *时珍国医国药*, 2020, 31(1): 186–188. [LI Bo, ZHAO Qian, GUAN Yu, et al. Effect of climatic conditions on the formation of *Astragalus membranaceus* production area[J]. *Lishizhen Medicine and Materia Medica Research*, 2020, 31(1): 186–188.]
- [25] 彭露茜, 郭彦龙. 中国黄芪地理分布和未来适生区预测[J]. *四川农业大学学报*, 2017, 35(1): 60–68. [PENG Luxi, GUO Yanlong. Geographical distribution of *Astragali Radix* and prediction of its suitable area in China[J]. *Journal of Sichuan Agricultural University*, 2017, 35(1): 60–68.]
- [26] 高伟城, 王小平, 方瑞燕, 等. 不同采收期及气候因子对枇杷叶品质的影响研究[J]. *中药材*, 2022, 45(8): 1898–1903. [GAO Weicheng, WANG Xiaoping, FANG Ruiyan, et al. Effect study of quality of *Eriobotryae folium* with different harvesting period and climatic factors[J]. *Journal of Chinese Medicinal Materials*, 2022, 45(8): 1898–1903.]