

中华中医药学会团体标准

T/CACM XXX-2018

子洲黄芪药材质量等级标准

Quality grade Standard of Zizhou Huangqi

(送审稿)

201x-xx-xx 发布

201x-xx-xx 实施

中华中医药学会发布

目 次

前 言	II
1 范围	1
2 规范性引用文件	1
3 术语和定义	1
4 质控内容及标准	2
4.1 来源	2
4.2 性状	3
4.3 鉴别	3
4.4 检查	5
4.5 规格等级	7
附录 A	9
附录 B	11
附录 C	12

中华中医药学会团体标准征求意见稿

前 言

本标准按照GB/T 1.1-2009给出的规则起草。

本标准由子洲县人民政府和北京中医药大学提出。

本标准由中华中医药学会归口。

本标准起草单位：北京中医药大学、子洲县人民政府、中药材规范化生产教育部研究中心、陕西师范大学西北濒危药材资源开发国家工程实验室、国药种业有限公司、中国汉广中药材集团有限公司、丽珠集团利民制药厂、河北橘井药业有限公司、恒德本草（北京）农业科技有限公司、陕西天芪生物科技有限公司、陕西省子洲县投资发展集团有限公司、陕西子洲黄芪产业发展股份有限公司、子洲县天赐中药材有限公司、子洲县富发农业科技有限公司、子洲县鼎盛中药材有限公司及子洲县永盛黄芪种植、子洲县永旺农产品销售、子洲县秦北中药材种植、子洲县正利中药种植等42家专业合作社。

本标准主要起草人：魏胜利、赵婷、张媛、田文仓、康杰芳、王继永、曹海禄、宋学武、栾震、叶雄、李怀生、李建国、师仰新、郭耿、曹鹏、曹多多、冯紫薇、李欣、卓冰雨、丁一明、张晶、祁小娟、刘守杰、蒋丽江、徐裕彬、李勇、柳志刚、祁春雷、徐社会、曹牛、曹发、姬存良、曹子林、苗建军、马生忠、郑世安等。

子洲黄芪质量等级标准

1 范围

本标准规定了子洲黄芪药材质量等级标准的术语、定义以及子洲黄芪的来源、性状、鉴别、检查及规格等级等方面的要求。

本标准适用于子洲黄芪药材的生产、流通以及使用过程中的药材质量评价。

2 规范性引用文件

下列文件对于本文件的应用是必不可少的。凡是注日期的引用文件，仅此版本适用于本文件。凡是不注日期的引用文件，其最新版本（包括所有的修改单）适用于本文件。

2015年版《中华人民共和国药典》（一部）

黄芪标准 香港中药材标准2005年版

中国药典中药材DNA条形码标准序列

3 术语和定义

3.1

子洲黄芪 **Zizhou huangqi**

产于陕西省榆林市子洲县县域内及其周边生态环境相似地域的仿野生种植蒙古黄芪（*Astragalus membranaceus* (Fisch.) Bge.var.*mongholicus* (Bge.) Hsiao）的干燥根。

3.2

金井玉栏 **Jin jing yu lan**

药材横切面上，外圈（皮部和韧皮部）白色，中心（木质部）黄色或淡黄色，习称金井玉栏，亦称金心玉栏。

3.3

直如箭杆 **Zhi ru jian gan**

形容子洲黄芪药材笔直，如同箭杆。

3.4

折之如绵 **Zhe zhi ru mian**

形容子洲黄芪药材绵性大，不易折断。

3.5

商品规格等级 **Commodity specification grade**

商品规格等级是指商业交易过程中，对产品或所使用原材料所规定的质量标准，一般用反映商品品质的要素（包括定性要素和定量要素）进行划分。中药材商品规格常根据基原、野生或家种、产地、主要形态特征（特别是颜色）、大小及比例、各种残次品比例、杂质比例、含硫情况、干度、虫蛀霉变等与药材品质相关的要素划分。

4 质控内容及标准

4.1 来源

本品为豆科植物蒙古黄芪 (*Astragalus membranaceus* (Fisch.) Bge. var. *mongholicus* (Bge.) Hsiao) 的干燥根。直播仿野生栽培于陕西省榆林市子洲县及其周边生态环境相似地域，生长5年或5年以上，于秋季采挖，除杂修剪，干燥。

4.2 性状

本品呈圆柱形，有的具分枝，上端较粗，长30~90cm，直径1~3.5cm，呈明显的“直如箭杆”特征。其质硬而韧，不易折断，断面纤维性强，并显粉色，具有“折之如绵”特征。表面淡棕黄色或淡棕褐色，有不整齐的纵皱纹或纵沟。断面皮部黄白色，木部淡黄色，皮部与木部颜色对比鲜明，呈现鲜明的“金井玉栏”外观，且有放射状纹理和裂隙。老根中心偶呈枯朽状，黑褐色或呈空洞。气微，味微甜，嚼之有明显的豆腥味。

4.3 鉴别

4.3.1 显微鉴别

本品横切面：木栓细胞多列；栓内层为3~5列厚角细胞。韧皮部射线外侧常弯曲，有裂隙，纤维成束，壁厚，木化或微木化，与筛管群交互排列；近栓内层处有时可见石细胞。形成层成环。木质部导管单个散在或2~3个相聚；导管间有木纤维；射线中有时可见单个或2~4个成群的石细胞。薄壁细胞含淀粉粒。

粉末黄白色。纤维成束或散离，直径8~30 μm ，壁厚，表面有纵裂纹，初生壁常与次生壁分离，两端常断裂成须状，或较平截。具缘纹孔导管无色或橙黄色，具缘纹孔排列紧密。石细胞少见，圆形、长圆形或形状不规则，壁较厚。

4.3.2 理化鉴别

取本品粉末3g，加甲醇20ml，加热回流1小时，滤过，滤液加于中性氧化铝柱（100~120目，5g，内径为10~15mm）上，用40%甲醇100ml洗脱，收集洗脱液，蒸干，残渣加水30ml使溶解，用水饱和的正丁醇振摇提取2次，每次20ml，合并正丁醇液，用水洗涤2次，每次20ml，弃去水液，正丁醇液蒸干，残渣加

甲醇0.5ml使溶解，作为供试品溶液。

另取黄芪甲苷对照品，加甲醇制成每1ml含1mg的溶液，作为对照品溶液。

照薄层色谱法（中国药典通则0502）试验，吸取上述两种溶液各2 μ l，分别点于同一硅胶G薄层板上，以三氯甲烷-甲醇-水(13: 7: 2)的下层溶液为展开剂，展开，取出，晾干，喷以10%硫酸乙醇溶液，在105℃加热至斑点显色清晰。供试品色谱中，在与对照品色谱相应的位置上，日光下显相同的棕褐色斑点；紫外光灯(365nm)下显相同的橙黄色荧光斑点。

取本品粉末2g，加乙醇30ml，加热回流20分钟，滤过，滤液蒸干，残渣加0.3%氢氧化钠溶液15ml使溶解，滤过，滤液用稀盐酸调节pH值至5~6，用乙酸乙酯15ml振摇提取，分取乙酸乙酯液，用铺有适量无水硫酸钠的滤纸滤过，滤液蒸干。残渣加乙酸乙酯1ml使溶解，作为供试品溶液。

另取黄芪对照药材2g，同法制成对照药材溶液。

照薄层色谱法(中国药典通则0502)试验，吸取上述两种溶液各10 μ l，分别点于同一硅胶G薄层板上，以三氯甲烷-甲醇（10: 1)为展开剂，展开，取出，晾干，置氨蒸气中熏后，置紫外光灯（365nm）下检视。供试品色谱中，在与对照药材色谱相应的位置上，显相同颜色的荧光主斑点。

4.3.3 聚合酶链式反应法

4.3.3.1 DNA提取

DNA提取步骤详见附录A。其中步骤2水浴20min调整为8小时，其余步骤不变。

4.3.3.2 序列扩增

序列扩增参照附录B。

4.3.3.3 *psbA-trnH*序列特征

蒙古黄芪 (*Astragalus membranaceus* (Fisch.) Bge. var. *mongholicus* (Bge.) Hsiao) *psbA-trnH*序列比对后长度为384bp。有5处插入/缺失, 分别为93, 202-206, 220-221, 315, 347位点。Gen Bank序列如下: AB787167、GU396754、KJ999256~KJ999271、KJ999286~KJ999295、KT201456~KT201480、MF097107~MF097110。主导单倍型序列特征见右图二维码。



4.4 检查

4.4.1 水分

不得过10.0% (2015版中国药典通则0832第二法)。

4.4.2 总灰分

不得过4.0% (2015版中国药典通则2302)。

4.4.3 重金属及有害元素

照铅、镉、砷、汞、铜测定法 (2015版中国药典通则2321原子吸收分光光度法或电感耦合等离子体质谱法)测定, 铅不得过5mg/kg; 镉不得过0.3mg/kg; 砷不得过2mg/kg; 汞不得过0.2mg/kg; 铜不得过20mg/kg。

4.4.4 有机氯农药残留量

照农药残留量测定法 (2015版中国药典通则2341有机氯类农药残留量测定法一第一法)测定。含总六六六 (α -BHC、 β -BHC、 γ -BHC、 δ -BHC之和)不得过0.2mg/kg; 总滴滴涕 (pp'-DDE、pp'-DDD、op'-DDT、pp'-DDT之和)不得过0.2mg/kg; 五氯硝基苯不得过0.1mg/kg。

4.4.5 浸出物

照水溶性浸出物测定法（2015版中国药典通则2201）项下的冷浸法测定，不得少于17.0%。

4.4.6 含量测定

4.4.6.1 黄芪甲苷含量测定

照高效液相色谱法（2015版中国药典通则0512）测定。

色谱条件 流动相：纯水（A相），乙腈（B相），流动相0~20min，32%B等度；流速：1.0ml min⁻¹；柱温：30℃；样品温度：25℃；漂移管温度：95℃；氮气流速：2l min⁻¹；进样量：20μl；蒸发光散射检测器检测。

对照品溶液的制备 取黄芪甲苷对照品适量，精密称定，加甲醇溶解制成1ml含0.5mg的溶液，即得。

供试品溶液的制备 取本品中粉2.0g，精密称定，置50ml离心管中，加甲醇30ml，超声处理30min，离心5min（3000xg）。残渣用30ml甲醇超声30min，离心5min，合并上清液，用旋转蒸发仪减压蒸干。残渣精密加入10ml的10%（V/V）氨水溶液中，放置10min，不时振摇，即得。

测定法 分别精密吸取对照品溶液20μl、供试品溶液20μl，注入液相色谱仪，测定。本品按干燥品计算，含黄芪甲苷（C₄₁H₆₈O₁₄）不得少于0.10%。

4.4.6.2 毛蕊异黄酮葡萄糖苷含量测定

照高效液相色谱法（2015版中国药典通则0512）测定。

色谱条件 Waters Atlantis T3 C18色谱柱（4.6mm×250mm，5μm）；以0.2%甲酸水为流动相A，以乙腈为流动相B，按表1中的规定进行梯度洗脱；流速：1.0ml min⁻¹；柱温：25℃；样品温度：25℃；检测波长：261nm；进样量：20μl。

表1 梯度洗脱程序

时间（分钟）	流动相A（%）	流动相B（%）
0~13	16→20	84→80
13~35	20→28	80→72

对照品溶液的制备 取毛蕊异黄酮葡萄糖苷对照品适量，精密称定，加甲醇溶解分别制成每1ml含0.2mg的对照品溶液，即得。

供试品溶液的制备 取本品粉末（过四号筛）约1g，精密称定，置圆底烧瓶中，精密加入甲醇50ml，称定重量，加热回流4小时，放冷，再称定重量，用甲醇补足减失的重量，摇匀，滤过，精密量取续滤液25 μ l，回收溶剂至干，残渣加5ml甲醇和50ml乙酸乙酯，静置1小时，抽滤，取滤液回收溶剂至干，残渣加甲醇溶解，转移至5ml量瓶中，加甲醇至刻度，摇匀，即得。

测定法 精密吸取对照品溶液与供试品溶液各20 μ l，注入液相色谱仪，测定，即得。

本品按干燥品计算，含毛蕊异黄酮葡萄糖苷（C₂₂H₂₂O₁₀）不得少于0.02%。

4.5 规格等级

4.5.1 等级划分要求

子洲黄芪为仿野生种植，因此只有仿野生黄芪1种规格，将此规格划分为6个等级，具体要求见表2。

表 2 子洲黄芪原型药材商品规格等级划分标准

规格	等级	性状描述			
		共同点	长(cm)	上端直径 (cm)	下端直径 (cm)
仿野生黄芪	特等	干货,呈圆柱形的单条。其质硬而韧,不易折断,断面纤维性强,并显粉性。表面淡棕黄色或淡棕褐色,有不整齐的纵皱纹或纵沟。断面皮部黄白色,木部淡黄色,皮部与木部颜色对比鲜明,呈现明显的“金井玉栏”外观,且有放射状纹理和裂隙。老根中心偶呈枯朽状,黑褐色或呈空洞。气微,味微甜,嚼之可闻到明显的豆腥味。	≥70	≥2	≥0.8
	一等		≥60	≥1.5	≥0.7
	二等		≥50	≥1.3	≥0.6
	三等		≥40	≥1.0	≥0.5
	四等		≥30	≥0.8	≥0.5
	五等		/	≥0.6	≥0.4

4.5.2 要求

无须根、虫蛀、霉变。

附录 A (资料性附录)

植物基因组 DNA 提取试剂盒操作步骤

1. 取取植物新鲜组织约100mg或干重组织30mg，加入液氮充分研磨。
2. 将研磨好的细粉迅速转移到预先装有700 μ l65 $^{\circ}$ C 预热缓冲液GP1的离心管中（实验前在预热的GP1中加入巯基乙醇，使其终浓度为0.1%），迅速颠倒混匀后，将离心管放在65 $^{\circ}$ C 水浴20min，水浴过程中颠倒离心管以混合样品数次。
3. 加入700 μ l氯仿，充分混匀，12000rpm(~13400xg)离心5min。
4. 小心地将上一步所得上层水相转入一个新的离心管中，加入700 μ l缓冲液GP2，充分混匀。
5. 将混匀的液体转入吸附柱CB3中，12000rpm(~13400xg)离心30sec，弃掉废液。（吸附柱容积为700 μ l左右，可分次加入离心。）
6. 向吸附柱CB3中加入500 μ l缓冲液GD（使用前请先检查是否已加入无水乙醇），12000rpm(~13400xg)离心30sec，倒掉废液，将吸附柱CB3放入收集管中。
7. 向吸附柱CB3中加入600 μ l漂洗液PW（使用前请先检查是否已加入无水乙醇），12000rpm(~13400xg)离心30sec，倒掉废液，将吸附柱CB3放入收集管中。
8. 重复操作步骤7.
9. 将吸附柱CB3放回收集管中，12000rpm(~13400xg)离心2min，倒掉废液。将吸附柱CB3置于室温放置数分钟，以彻底晾干吸附材料中残余的漂洗液。
注意：这一步的目的是将吸附柱中残余的漂洗液去除，漂洗液中乙醇的残留会影响后续的酶反应（酶切、PCR等）实验。

10.将吸附柱CB3转入一个干净的离心管中，向吸附膜的中间部位悬空滴加50-200 μ l洗脱缓冲液TE，室温放置2-5min，12000rpm(~13400xg)离心2min，将溶液收集到离心管中。

中华中医药学会团体标准征求意见稿

附录 B
(资料性附录)

中药材 DNA 条形码分子鉴定标准操作流程 PCR 扩增

表 2 DNA 条形码扩增引物及 PCR 扩增程序

序列名称	引物名称	引物序列 (5'~3')	PCR 反应条件
<i>psbA</i> - <i>trnH</i>	fwd PA	5'-GTTATGCATGAACGTAATGCTC-3'	94°C 4min
	rev TH	5'-CGCGCATGGTGGATTTCACAATCC-3'	94°C 45s, 58°C 30s, 72°C 90s, 30个循环; 72°C 7min, 4°C 保存

表3 30μl反应体系配比

2×Taq PCR Mix	15 μl
正向引物 (10 μmol/L)	0.5 μl
反向引物 (10 μmol/L)	0.5 μl
ddH ₂ O	11 μl
模板	3 μl

附录 C
(资料性附录)

子洲黄芪规格等级性状图



图 1 子洲黄芪不同等级上端截面观

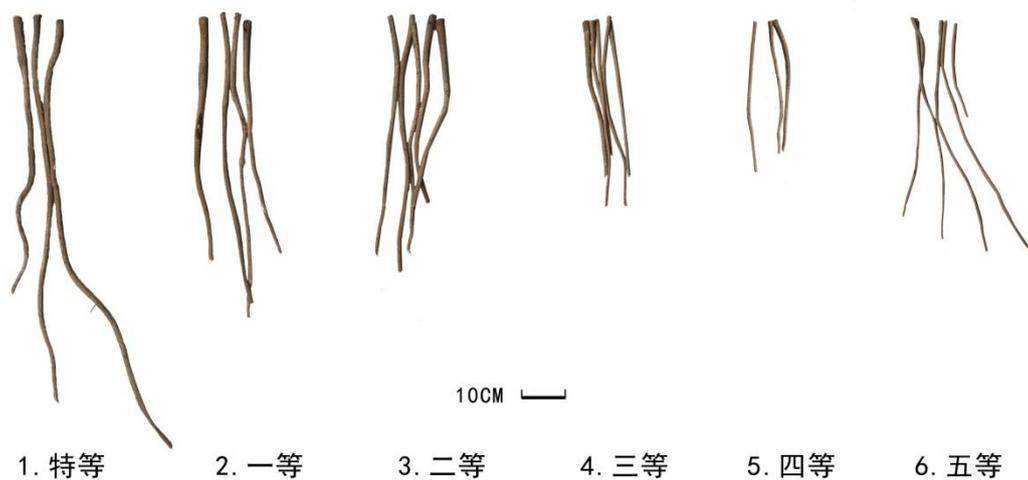


图 2 不同等级子洲黄芪