

影响山西恒山野生蒙古黄芪质量的环境因素研究

胡明勋^{1,2}, 陈安家^{1*}, 郭宝林^{2*}, 黄文华², 曹秀娟³, 侯美利³

1. 山西医科大学, 山西 太原 030001

2. 中国医学科学院 北京协和医学院药用植物研究所, 北京 100193

3. 山西省浑源县科技局, 山西 大同 037400

摘要: **目的** 通过相关性分析和逐步回归分析方法分析海拔、经度、纬度、坡向、坡度生态环境因素对恒山产野生蒙古黄芪黄酮类和皂苷类成分的影响, 筛选出影响黄芪质量的主要环境因素。**方法** 采用 HPLC-DAD 法测定了毛蕊异黄酮苷、芒柄花苷、毛蕊异黄酮、芒柄花素 4 种黄酮成分; UPLC-ELSD 法测定了黄芪皂苷 I、黄芪皂苷 II、黄芪皂苷 III、黄芪甲苷 4 种皂苷成分。采用 SPSS17.0 软件对黄芪各成分进行相关性分析, 并以逐步回归分析法分析各生态因素对各成分量的影响。**结果** 建立逐步回归方程, 毛蕊异黄酮苷的量与黄酮总量相关系数为 0.958, 黄芪皂苷 I 的量与皂苷总量相关系数为 0.969, 毛蕊异黄酮的量与芒柄花素的量相关系数为 0.896, 呈极显著的正相关; 皂苷总量与黄酮总量相关系数为-0.505, 呈显著的负相关。随着海拔和纬度的升高, 黄芪中毛蕊异黄酮和黄酮总量升高; 芒柄花素的量随经度的增加而增加; 种植在阴坡的黄芪中黄芪皂苷 I 和皂苷总量的量高, 且随坡度增大而升高; 黄芪皂苷 II 的量主要受坡度的影响。**结论** 影响恒山野生蒙古黄芪药材黄酮成分量的主要因素是海拔和纬度, 经度也有一定的影响; 坡向和坡度对黄芪的皂苷成分的量有显著的影响, 纬度、海拔也有一定的影响。

关键词: 蒙古黄芪; 生态环境; 皂苷; 黄酮; UPLC-ELSD

中图分类号: R282.2

文献标志码: A

文章编号: 0253-2670(2012)05-0984-06

Effects of environmental factors on quality of wild *Astragalus membranaceus* var. *mongholicus* grown in Hengshan Mountain, Shanxi Province

HU Ming-xun^{1,2}, CHEN An-jia¹, GUO Bao-lin², HUANG Wen-hua², CAO Xiu-juan³, HOU Mei-li³

1. Shanxi Medical University, Taiyuan 030001, China

2. Institute of Medicinal Plant Development, Chinese Academy of Medical Sciences and Peking Union Medical College, Beijing 100193, China

3. Shanxi Hunyuan Technology Bureau, Datong 037400, China

Abstract: Objective By using correlation analysis and stepwise regression analysis, the effects of ecological environment factors, such as altitude, latitude, longitude, exposure, and slope, on flavonoids and saponins in wild *Astragalus membranaceus* var. *mongholicus* in Hengshan Mountain and the key factors affecting the quality of *A. membranaceus* var. *mongholicus* were screened.

Methods The contents of calycosin glucoside, ononin, calycosin, and formononetin were analyzed by HPLC-DAD, astragaloside I, astragaloside II, astragaloside III, and astragaloside IV by UPLC-ELSD. The SPSS17.0 statistical software was used to perform relevant analysis, and with the stepwise regression analysis to analyze the influence of ecological factors on each component. **Results** The regression equations were established. The correlation coefficients between amounts of calycosin glucoside and total flavonoids, astragaloside I and total saponins, and calycosin and formononetin were 0.958, 0.969, and 0.896, respectively and presented a very significant positive correlation, while total saponins and flavonoids showed a significant negative correlation with the coefficient -0.505. The content of calycosin and total flavonoids increased with the rise of latitude and altitude; the amount of formononetin improved as longitude; The content of astragaloside I and total saponins with high quantity of *A. membranaceus* var. *mongholicus* grown in shady slope rised with the slope increasing and the amount of astragaloside II was mainly influenced by slope. **Conclusion** The main factors influencing the contents of flavonoids are altitude and latitude, longitude has certain effect, while exposure and slope have significant effects on the contents of saponins, latitude and altitude also have certain effects.

Key words: *Astragalus membranaceus* (Fisch.) Bge. var. *mongholicus* (Bge.) Hsiao; ecological environment; saponins; flavonoids; UPLC-ELSD

收稿日期: 2011-12-13

基金项目: 山西省科技攻关项目 (2561); 山西省回国留学人员基金项目 (2010-53)

作者简介: 胡明勋 (1986—), 男, 现为山西医科大学硕士研究生, 从事药物分析方面的研究。Tel: (010)57833238 E-mail: hmx1540@163.com

*通讯作者 陈安家 Tel: 15835108120 E-mail: chenanjia888@163.com

郭宝林 Tel: (010)62895049 E-mail: guobaolin010@163.com

山西恒山为蒙古黄芪 *Astragalus membranaceus* (Fisch.) Bge. var. *mongholicus* (Bge.) Hsiao 的主产地之一^[1], 恒山产黄芪历史悠久, 以分叉少, 成品绵性大, 柴性小, 粉性和甜味足, 品质居全国首位, 在道地药材中也享有盛名。恒山山脉产黄芪的区域有浑源、应县、繁峙、代县等^[2], 浑源为主要产区, 因此恒山黄芪又称为浑源芪。由于产地几百年来采取了人工撒种辅助繁殖和生长的抚育方法, 保障了浑源芪生产和供应, 近 10 年来浑源发展的仿野生种植黄芪模式取得成功, 获得了国家药监局的 GAP 认证, 正在规模化发展过程中。经本课题组研究发现, 此种植方法收获的 5~6 年生仿野生种植黄芪外观性状与野生黄芪相同, 且黄酮类和皂苷类成分还高于野生黄芪^[3]。恒山黄芪产区分布在海拔 1 300~1 800 m 的山地, 坡度 20°~50°, 土壤多为砂质黄壤, 松软通透性较好, 有利于黄芪根系下扎, 保证了黄芪药材良好的根形^[4]。恒山的土壤和气候被认为是道地黄芪形成的重要因素^[5]。本研究对恒山境内的野生蒙古黄芪进行大范围样品采集, 分析在恒山大的气候土壤环境下, 海拔、经度、纬度、坡向、坡度等生态因素变化对于黄芪中黄酮类和皂苷类成分量的影响, 用于指导仿野生栽培黄芪发展过程中的基地选址, 以保证生产出更优质的药材, 并进一

步为规范化种植栽培措施提供依据。

1 材料与仪器

2010 年 10 月, 在山西恒山山脉(浑源县、应县和繁峙县)采集了 21 份野生样品, 见表 1。21 批野生黄芪样品均由中国医学科学院北京协和医学院药用植物研究所郭宝林研究员鉴定为蒙古黄芪 *Astragalus membranaceus* (Fisch.) Bge. var. *mongholicus* (Bge.) Hsiao。

乙腈(色谱纯, 美国 Fisher 公司); 娃哈哈纯净水; 其他试剂均为分析纯。毛蕊异黄酮葡萄糖苷、芒柄花苷对照品购于成都曼斯特公司(质量分数大于 98%), 毛蕊异黄酮、芒柄花素对照品购于天津马克公司, 质量分数大于 98%; 黄芪皂苷 I、黄芪皂苷 II、黄芪皂苷 III、黄芪甲苷对照品购于天津马克公司, 质量分数大于 98%。

Water 高效液相色谱仪(2690 型泵, 996 检测器, 自动进样器、Empower 色谱工作站)。Waters Acquity UPLC system(二元泵处理器、样品处理器、ELSD 检测器)。

2 方法

2.1 黄酮的测定

2.1.1 色谱条件 Venusil ASB 色谱柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm, Agela 公司); 流动相为乙腈(A)-0.3%

表 1 蒙古黄芪样品产地和环境因素条件

Table 1 Habitats and environmental factors of *A. membranaceus* var. *mongholicus*

编 号	产 地	海拔 / m	经 度 / (°)	纬 度 / (°)	坡 向	坡度 / (°)		
1	浑源县官儿乡	麻庄村	1 638	39.51	113.66	阴坡	30	
2		穆家村	1 597	39.55	113.62	阳坡	30	
3		穆家村	1 691	39.45	113.66	阴坡	40	
4		界板沟	1 817	39.49	113.66	阳坡	35	
5	浑源县千佛岭乡	麻庄村	1 642	39.51	113.66	阴坡	30	
6		宽坪村	1 684	39.48	113.76	半阴坡	45	
7		姚家村	1 454	39.51	113.80	半阴坡	35	
8		宽坪村	1 710	39.48	113.76	阴坡	25	
9	浑源县沙圪坨镇	温庄	1 735	39.45	113.75	半阴坡	35	
10		赤泥泉村	1 414	39.83	113.81	半阴坡	35	
11		浑源县黄花滩乡	黄花滩村	1 648	39.65	113.85	阳坡	35
12		浑源县青磁窑乡	南岭村	1 659	39.24	113.76	阳坡	35
13	浑源县大仁庄乡	林场村	1 766	39.56	113.72	半阴坡	30	
14		清水沟	1 632	39.68	113.89	阴坡	30	
15		岔口村	1 363	39.70	113.82	阴坡	40	
16		莹洞沟	1 306	39.72	113.78	半阳坡	50	
17	应县白马石乡	鸡儿沟	1 420	39.39	113.34	阴坡	35	
18		山岔村	1 468	39.43	113.34	阳坡	30	
19	应县梨树坪乡	灰窑村	1 673	39.33	113.28	阴坡	40	
20	应县南泉乡	莲花池村	1 749	39.35	113.31	半阴坡	45	
21	繁峙县繁峙镇	郭家庄	1 657	39.30	113.29	阴坡	30	

阴坡为北向坡, 阳坡为南向坡, 半阴坡为东向坡, 半阳坡为西向坡

Shady slope is to north, sunny slope is to south, semi-shady slope is to east, and semi-sunny slope is to west

甲酸溶液 (B), 梯度洗脱: 0~10 min, 18% A; 10~35 min, 20% A; 35~52 min, 24% A; 52~60 min, 27% A; 60~65 min, 34% A; 65~70 min, 40% A; 70 min, 50% A, 体积流量 1.0 mL/min; 检测波长 260 nm; 柱温 25 ℃。

2.1.2 对照品溶液的制备 分别精密称取毛蕊异黄酮葡萄糖苷、芒柄花苷、毛蕊异黄酮和芒柄花素对照品适量, 用甲醇溶解, 摇匀, 分别制成 4.448、2.600、1.396、1.000 μg/mL 的混合对照品溶液。

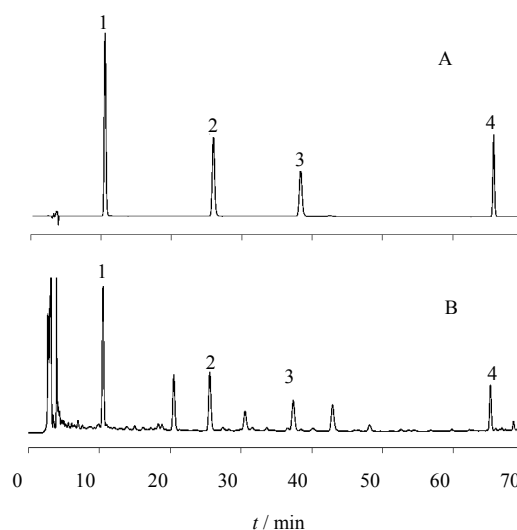
2.1.3 标准曲线的制备 精密量取混合对照品溶液 1 mL, 定容至 10 mL, 制成贮备液; 精密吸取上述混合对照品溶液 5、10 μL, 贮备液 5、10、20 μL, 注入液相色谱仪, 测定。以进样量为横坐标 (X), 峰面积积分值为纵坐标 (Y), 制备标准曲线, 得回归方程及其线性范围。毛蕊异黄酮苷 $Y=9.53 \times 10^5 X + 1.28 \times 10^4$, $r=0.999 5$, 线性范围 0.008 9~2.224 4 μg; 芒柄花苷 $Y=9.25 \times 10^5 X + 1.57 \times 10^4$, $r=0.999 6$, 线性范围 0.005 2~1.300 0 μg; 毛蕊异黄酮 $Y=1.23 \times 10^6 X + 4.8 \times 10^3$, $r=0.999 9$, 线性范围 0.002 8~0.697 6 μg; 芒柄花素 $Y=1.87 \times 10^6 X + 1.25 \times 10^3$, $r=0.999 9$, 线性范围 0.002 0~0.500 0 μg。

2.1.4 供试品溶液的制备 取各批样品, 在 50 ℃ 下干燥 3 h, 粉碎 (过 2 号筛), 精密称定 1.0 g, 加入 100 mL 甲醇, 回流提取 1.5 h, 转移, 减压浓缩, 定容到 10 mL 量瓶中, 用 0.45 μm 滤膜滤过, 进样 20 μL。在“2.1.1”项色谱条件下, 对照品及样品 (1 号) 色谱图见图 1。

2.1.5 精密度试验 精密吸取混合对照品溶液, 连续进样 6 次, 按 4 种黄酮类成分的峰面积积分值分别计算其 RSD 值。毛蕊异黄酮苷、芒柄花苷、毛蕊异黄酮、芒柄花素的 RSD 分别为 0.21%、0.59%、0.36%、0.19%。

2.1.6 重复性试验 精密称取 1 号供试品粉末 1.0 g, 共 6 份, 分别按“2.1.4”项下方法制备供试品溶液, 按上述“2.1.1”项色谱条件进行测定。毛蕊异黄酮苷、芒柄花苷、毛蕊异黄酮、芒柄花素质量分数的 RSD 分别为 0.52%、0.67%、0.80%、0.93%。

2.1.7 稳定性试验 取 1 号样品制备供试品溶液, 分别于 0、2、4、8、10、12 h 精密吸取 20 μL 进样检测, 按 4 种黄酮类成分的峰面积分别计算其 RSD 值。毛蕊异黄酮苷、芒柄花苷、毛蕊异黄酮、芒柄花素的 RSD 分别为 0.13%、0.86%、0.43%、0.24%, 表明供试品溶液在 12 h 内稳定性良好。



1-毛蕊异黄酮苷 2-芒柄花苷 3-毛蕊异黄酮 4-芒柄花素
1-calycosin glucoside 2-ononin 3-calycosin 4-formononetin

图 1 黄酮类混合对照品 (A) 和黄芪样品 (B) 的 HPLC 色谱图

Fig. 1 HPLC chromatograms of flavonoids mixed reference substances (A) and *A. membranaceus* var. *mongholicus* (B)

2.1.8 加样回收率试验 称取已测定的 1 号样品 0.5 g, 共 6 份, 于每份样品中分别精密加入适量的对照品, 按“2.1.4”项下方法制备供试品溶液, 按上述方法测定。毛蕊异黄酮苷、芒柄花苷、毛蕊异黄酮、芒柄花素的加样回收率平均值分别为 100.27%、99.87%、100.48%、100.53%, 其 RSD 值分别为 0.41%、0.60%、1.08%、0.32%。

2.2 皂苷的测定

2.2.1 色谱条件 色谱柱 Waters Acquity UPLC (150 mm×2.1 mm, 1.7 μm), 流动相乙腈 (A)-0.3% 甲酸溶液 (B), 梯度洗脱: 0~4 min, 20% A; 4~8 min, 33% A; 8~11 min, 41% A; 11~12 min, 44% A; 12~14 min, 45% A; 14~18 min, 65% A。体积流量 0.2 mL/min, 柱温 30 ℃, 蒸发光散射检测器参数: 漂移管温度 70 ℃, 喷雾器温度 42 ℃, 氮气体积流量 2.07 L/min。

2.2.2 标准曲线的制备 分别精密称取黄芪皂苷 I、黄芪皂苷 II、黄芪皂苷 III、黄芪甲苷对照品适量, 用甲醇溶解, 摇匀, 分别制成 19.2、4.04、1.52、1.76 μg/mL 的对照品溶液。分别吸取 2、3、5、6 μL 对照品溶液, 注入液相色谱仪, 测定。以进样量 (X) 为横坐标, 峰面积积分值 (Y) 为纵坐标, 制备标准曲线, 得回归方程及其线性范围。黄芪皂苷 I $Y=3.10 \times 10^7 X - 1.01 \times 10^6$, $r=0.999 9$, 线性范围为 0.038 4~0.576 2 μg; 黄芪皂苷 II $Y=3.27 \times 10^7$

$X-2.95 \times 10^5$, $r=0.999\ 8$ 线性范围为 $0.009\ 7 \sim 0.145\ 0\ \mu\text{g}$; 黄芪皂苷 III $Y=2.29 \times 10^7 X-2.83 \times 10^3$, $r=0.999\ 9$, 线性范围为 $0.003\ 1 \sim 0.045\ 1\ \mu\text{g}$; 黄芪甲苷 $Y=1.99 \times 10^7 X-2.97 \times 10^3$, $r=0.999\ 8$, 线性范围为 $0.003\ 6 \sim 0.053\ 4\ \mu\text{g}$ 。

2.2.3 供试品溶液的制备 精密称定各批黄芪样品粉末 $2.0\ \text{g}$ 置于烧瓶中, 加入 $60\ \text{mL}$ 甲醇, 盖上塞子, 冷浸过夜, 回流提取 $3\ \text{h}$, 提取液回收并浓缩至干, 加水 $5\ \text{mL}$, 微热溶解, 过固相萃取柱先用 $20\ \text{mL}$ 甲醇和 $5\ \text{mL}$ 水预处理^[5], 用 $5\ \text{mL}$ 双蒸水洗涤, 然后用 20% 甲醇溶液 $5\ \text{mL}$ 洗涤, 弃去洗涤液。用甲醇 $20\ \text{mL}$ 洗脱, 收集洗脱液, 浓缩至干, 残渣加甲醇使其溶解并定容至 $5\ \text{mL}$ 量瓶中, 摇匀, 滤过, 取续滤液, 过 $0.22\ \mu\text{m}$ 微孔滤膜, 即得。在“2.2.1”项条件下, 对照品及样品(1号)色谱图见图 2。

2.2.4 精密度试验 精密吸取“2.2.2”配制的对照品溶液连续进样 6 次, 按 4 种皂苷成分的峰面积积分值分别计算其 RSD 值。黄芪皂苷 I、黄芪皂苷 II、黄芪皂苷 III、黄芪甲苷的 RSD 分别为 0.20% 、 1.14% 、 0.77% 、 0.60% 。

2.2.5 重复性试验 精密称取 1 号供试品粉末 $2.0\ \text{g}$, 共 5 份, 分别按“2.2.3”项下方法制备供试品溶液, 按上述“2.2.1”色谱条件进行测定。结果, 黄芪皂苷 I、黄芪皂苷 II、黄芪皂苷 III、黄芪甲苷质量分

数的 RSD 分别为 0.12% 、 0.32% 、 1.17% 、 0.56% 。

2.2.6 稳定性试验 取 1 号供试品溶液, 分别于 0 、 2 、 4 、 8 、 10 、 $12\ \text{h}$ 精密吸取 $2\ \mu\text{L}$ 进样检测, 按 4 种黄酮类成分的峰面积分别计算其 RSD 值。结果, 黄芪皂苷 I、黄芪皂苷 II、黄芪皂苷 III、黄芪甲苷的 RSD 分别为 0.56% 、 0.25% 、 1.22% 、 1.15% 。

2.2.7 加样回收率试验 称取已测定的 1 号黄芪样品 $1.0\ \text{g}$, 共 6 份, 于每份样品中分别精密加入适量的对照品, 按“2.2.3”下方法制备供试品溶液, 按上述方法测定。结果, 黄芪皂苷 I、黄芪皂苷 II、黄芪皂苷 III、黄芪甲苷的加样回收率平均值分别为 100.32% 、 99.51% 、 100.57% 、 100.21% , 其 RSD 值分别为 0.44% 、 0.39% 、 1.19% 、 0.65% 。

3 结果与分析

3.1 黄酮和皂苷类成分的测定

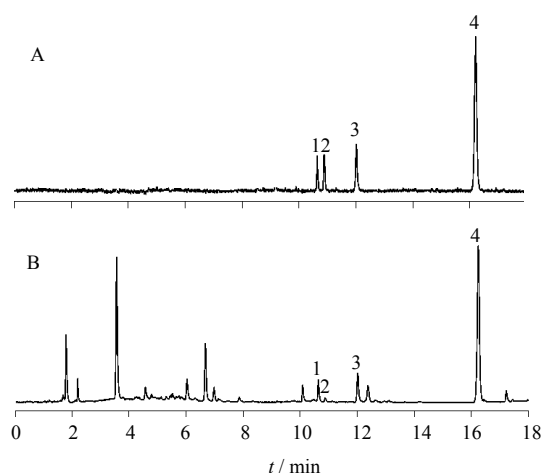
采用“2.1”和“2.2”项方法, 对样品进行测定, 全部样品 8 种成分的测定结果见表 2。

3.2 黄芪各化学成分间的相关性分析

采用 SPSS 17.0 软件对黄芪中的黄酮类成分和皂苷类成分进行相关性分析。分析结果见表 3, 毛蕊异黄酮苷与黄酮总量相关系数为 0.958 , 芒柄花苷与黄酮总量相关系数为 0.578 , 黄芪皂苷 I 与皂苷总量相关系数为 0.969 , 黄芪皂苷 III 与皂苷总量相关系数为 0.559 , 毛蕊异黄酮与芒柄花素的量相关系数为 0.896 , 均呈极显著的正相关; 黄酮总量与皂苷总量相关系数为 -0.505 , 毛蕊异黄酮苷与皂苷总量相关系数为 -0.47 , 黄芪皂苷 I 与黄酮总量相关系数为 -0.516 , 毛蕊异黄酮苷与黄芪皂苷 I 的量相关系数为 -0.49 , 均呈显著的负相关。说明毛蕊异黄酮苷与黄酮总量相关性非常高, 可以通过毛蕊异黄酮苷的量去判断黄酮总量的量; 黄芪皂苷 I 与皂苷总量相关性非常高, 可以通过黄芪皂苷 I 的量去判断皂苷总量; 黄芪皂苷成分与黄酮成分量呈显著的负相关。

3.3 逐步回归分析

采用 SPSS 17.0 软件对以山西浑源县采集地点的生态因子为自变量, 21 个采集样品的黄酮类和皂苷类成分的量因变量, 进行逐步回归分析, 剔除无显著效应的自变数, 建立比较简化而又准确的多元线性回归方程。对坡向和坡度进行了数学处理, 将 5 个生态因子分别规定为海拔 (X_1)、经度 (X_2)、纬度 (X_3)、坡向 (X_4)、坡度 (X_5), 黄酮类成分的量规定为毛蕊异黄酮苷 (Y_1)、芒柄花苷 (Y_2)、毛蕊异黄酮 (Y_3)、芒柄花素 (Y_4)、4 个黄酮总量 (Y_{T1});



1-黄芪甲苷 2-黄芪皂苷 III 3-黄芪皂苷 II 4-黄芪皂苷 I
1-astragaloside IV 2-astragaloside III 3-astragaloside II
4-astragaloside I

图 2 皂苷类混合对照品 (A) 和蒙古黄芪样品 (B) 的 UPLC 色谱图

Fig. 2 UPLC chromatograms of saponins mixed reference substances (A) and *A. membranaceus* var. *mongholicus* (B)

表 2 蒙古黄芪样品中黄酮类和皂苷类成分的测定 (n=3)

Table 2 Determination of flavonoids and saponins in *A. membranaceus* var. *mongholicus* (n=3)

样品	质量分数 / (mg·g ⁻¹)									
	毛蕊异黄酮苷	芒柄花苷	毛蕊异黄酮	芒柄花素	黄酮总量	黄芪皂苷 I	黄芪皂苷 II	黄芪皂苷 III	黄芪甲苷	皂苷总量
1	1.207 3	0.267 7	0.013 3	0.003 3	1.491 6	0.410 4	0.067 3	0.012 3	0.052 6	0.542 6
2	0.763 1	0.403 6	0.005 2	0.003 1	1.175 0	0.273 5	0.052 9	0.015 6	0.022 1	0.364 1
3	0.750 7	0.306 2	0.009 3	0.003 3	1.069 5	0.635 7	0.164 0	0.025 3	0.085 1	0.910 1
4	1.185 4	0.357 7	0.007 7	0.002 8	1.553 6	0.382 1	0.115 7	0.018 0	0.046 7	0.562 5
5	1.697 5	0.048 2	0.012 6	0.003 9	1.762 2	0.458 5	0.090 5	0.026 6	0.040 9	0.616 5
6	0.823 5	0.335 9	0.014 9	0.004 7	1.178 9	0.416 7	0.100 2	0.018 2	0.039 1	0.574 2
7	0.960 8	0.446 0	0.015 7	0.004 2	1.426 8	0.619 4	0.082 5	0.027 2	0.039 2	0.768 3
8	1.125 2	0.241 7	0.014 0	0.005 1	1.385 9	0.433 5	0.100 2	0.014 3	0.112 7	0.660 7
9	1.214 7	0.364 6	0.017 8	0.004 9	1.602 0	0.337 6	0.095 2	0.019 9	0.086 8	0.539 5
10	0.865 4	0.389 1	0.042 9	0.018 4	1.315 8	0.386 8	0.067 9	0.011 7	0.025 3	0.491 7
11	1.750 6	0.718 3	0.012 9	0.002 9	2.484 7	0.280 3	0.054 1	0.014 6	0.020 4	0.369 4
12	1.142 9	0.338 9	0.028 3	0.006 2	1.516 3	0.424 0	0.065 8	0.014 6	0.020 6	0.525 0
13	0.772 4	0.320 7	0.006 6	0.003 2	1.102 9	0.367 3	0.055 8	0.020 0	0.042 4	0.485 5
14	1.134 9	0.229 9	0.013 8	0.004 6	1.383 2	0.764 8	0.093 2	0.022 8	0.030 6	0.911 4
15	0.447 1	0.226 5	0.028 4	0.013 0	0.715 1	0.788 5	0.033 7	0.030 2	0.058 5	0.910 9
16	0.263 0	0.183 8	0.011 7	0.006 2	0.464 7	0.575 0	0.124 2	0.043 3	0.046 4	0.788 9
17	0.413 1	0.207 4	0.008 6	0.004 3	0.633 4	0.798 9	0.031 4	0.030 7	0.078 9	0.939 9
18	0.684 0	0.145 0	0.010 7	0.004 1	0.843 8	0.289 1	0.026 6	0.037 2	0.035 7	0.388 6
19	0.951 9	0.393 9	0.009 7	0.003 0	1.358 4	0.672 8	0.096 4	0.040 0	0.026 6	0.835 8
20	0.632 6	0.414 9	0.009 3	0.004 8	1.061 6	0.623 6	0.140 1	0.035 4	0.035 5	0.834 6
21	0.399 2	0.216 6	0.004 5	0.003 1	0.623 4	0.727 4	0.069 7	0.029 9	0.025 5	0.852 5

表 3 蒙古黄芪各化学成分量间的相关分析结果

Table 3 Correlations among contents of each chemical composition in *A. membranaceus* var. *mongholicus*

	毛蕊异黄酮苷	芒柄花苷	毛蕊异黄酮	芒柄花素	黄酮总量	黄芪皂苷 I	黄芪皂苷 II	黄芪皂苷 III	黄芪甲苷	皂苷总量
毛蕊异黄酮苷	1									
芒柄花苷	0.321	1								
毛蕊异黄酮	0.091	0.087	1							
芒柄花素	-0.218	-0.041	0.896**	1						
黄酮总量	0.958**	0.578**	0.132	-0.174	1					
黄芪皂苷 I	-0.49*	-0.311	-0.06	0.086	-0.516*	1				
黄芪皂苷 II	0.044	0.044	-0.194	-0.197	-0.045	0.143	1			
黄芪皂苷 III	-0.552**	-0.362	-0.331	-0.136	-0.592**	0.546*	0.141	1		
黄芪甲苷	-0.74	-0.29	-0.084	-0.05	-0.153	0.131	0.248	-0.053	1	
皂苷总量	-0.47*	-0.327	-0.116	0.028	-0.505*	0.969**	0.350	0.559**	0.289	1

*表示在 0.05 水平差异显著, **表示在 0.01 水平差异显著

* means significant difference at 0.05, ** means significant difference at 0.01 level

皂苷类成分的量规定为黄芪皂苷 I (Y_I)、黄芪皂苷 II (Y_{II})、黄芪皂苷 III (Y_{III})、黄芪甲苷 (Y_{IV})、4 个皂苷总量 (Y_{T2})。

3.3.1 影响黄芪黄酮类的环境因素 $Y_1 = -99.967 + 0.001 X_1 + 0.84 X_3$, $r = 0.643$; Y_2 未选上任何自变量; $Y_3 = -2.596 + 0.023 X_3$, $r = 0.513$; $Y_4 = -0.548 + 0.014$

X_2 , $r=0.557$; $Y_{T1}=-118.761+0.002 X_1+1.032 X_3$, $r=0.658$ 。从上述各回归方程可以看出, 影响黄芪药材中毛蕊异黄酮苷和黄酮总量的主导生态因子是海拔和纬度, 并且呈正相关, 即随海拔和纬度的升高而黄酮的量逐渐升高; 影响毛蕊异黄酮量的主要因素是纬度, 但相关系数 r 不大, 表明纬度对毛蕊异黄酮量的影响并不突出; 芒柄花素的量主要与经度呈正相关; 芒柄花苷成分的变化无规律。

3.3.2 影响黄芪皂苷类的生态因素 $Y_I=0.332-0.095 X_4+3.741 X_5$, $r=0.756$; $Y_{II}=-0.221+1.245 X_5$, $r=0.724$; $Y_{III}=2.952-0.026 X_3-2.833 \times 10^{-5} X_1+0.195 X_5$, $r=0.794$; $Y_{IV}=0.065-0.009 X_4$, $r=0.435$; $Y_{T2}=0.411-0.11 X_4+4.793 X_5$, $r=0.810$ 。从上述各回归方程中可以看出, 影响黄芪药材中黄芪皂苷 I、皂苷总量的主要因素是坡向和坡度, 种植在阴坡的量最高, 且随坡度的增大而增加; 黄芪皂苷 II 与坡度和海拔相关, 但海拔的系数是 0, 说明海拔的影响较小, 主要受坡度的影响; 黄芪皂苷 III 受到纬度、海拔和坡度 3 个因素组合影响, 即随纬度和海拔的降低及坡度的增大的组合影响, 黄芪皂苷 III 量升高; 影响黄芪甲苷量的主导生态因子是坡向, 但相关系数 r 值较小, 表明坡向对黄芪甲苷量影响不显著。

4 讨论

毛蕊异黄酮苷是几种黄酮中量最高的成分, 芒柄花苷次之, 毛蕊异黄酮、芒柄花素的量较低, 这也说明了黄酮总量和毛蕊异黄酮苷回归方程一致的结果, 结合毛蕊异黄酮苷和黄酮总量极显著的正相关性, 可以说影响黄芪的黄酮成分的主要因素是海拔和纬度, 且呈正相关, 即随海拔和纬度的增高而逐渐变大; 经度也有一定的影响, 但影响不明显。

黄芪皂苷 I 是黄芪皂苷中量最高的成分, 黄芪皂苷 II 次之, 黄芪皂苷 III 和黄芪甲苷的量很低, 这也说明了黄芪皂苷 I 和皂苷总量回归方程一致的结果, 结合黄芪皂苷 I 与皂苷总量极显著的正相关性, 可以认为坡向和坡度对黄芪的皂苷成分的量有显著影响, 种植在阴坡的量最高, 且随坡度的增大而变大; 纬度、海拔有一定的影响, 但影响不大。坡向的影响可能与光照及土壤中的有机物的量有关, 具体是哪一种因素的影响, 还是几种因素综合作用的影响, 尚需要进一步研究。

恒山蒙古黄芪的品质优势是多种环境因子综合影响的结果, 而生态因子与药材质量之间的关系是错综复杂的, 应用多元统计分析方法, 同时分析不同生态因子相互作用的影响, 加强多因素、定量化和综合分析的研究。但生态因子对药材品质形成过程中关键酶及相关生化过程的影响研究还有待进一步的深入研究。

参考文献

- [1] 中国药典 [S]. 一部. 2010.
- [2] 刘亚明, 牛燕珍, 冯前进, 等. 三种黄芪质量比较及山西道地黄芪的产业化发展分析 [J]. 中国医药学报, 2001, 16(4): 23-24.
- [3] 刘靖, 陈虎彪, 白焱晶, 等. 不同种植方式下恒山黄芪的质量比较研究 [J]. 中国中药杂志, 2008, 33(5): 570-573.
- [4] 张强, 程滨, 董云中, 等. 北岳恒山地道黄芪营养特征及产地土壤理化性状研究 [J]. 水土保持学报, 2005, 19(6): 26-30.
- [5] Yu Q T, Qi L W, Li P, *et al.* Determination of seventeen main flavonoids and saponins in the medicinal plant Huang-qi (*Radix Astragali*) by HPLC-DAD-ELSD [J]. *Sep Sci*, 2007, 30: 1292-1299.