

六种绿绒蒿植物元素聚类分析和 DCA 分析

舍莉萍^{1,2}, 卢学峰¹, 周玉碧¹, 叶润蓉¹, 孙胜男^{1,2}, 赵庆帅^{1,2}, 彭敏¹, 孙菁^{1*}

¹中国科学院西北高原生物研究所青海省青藏高原特色生物资源研究

重点实验室, 西宁 810008; ²中国科学院大学, 北京 100049

摘要: 本文利用湿法消解结合电感耦合等离子体发射光谱仪测定了六种绿绒蒿属药用植物中元素组成及含量, 采用 PC-ORD 数据分析软件对数据进行聚类分析和 DCA 分析。结果显示, 同一元素在不同绿绒蒿样品中显示出不同的含量水平, 以含量排序, 前 6 种元素均依次为 K > Ca > Mg > Fe > Al > Na; 聚类分析将六种绿绒蒿植物聚为三个类群, 即五脉、川西、红花和全缘叶绿绒蒿为第一类群, 多刺和总状绿绒蒿分别为第二和第三类群; DCA 分析则显示采样点海拔与六种绿绒蒿植物中各元素的富集呈负相关影响, 经纬度土壤 pH 值则与其呈正相关影响。本实验结果可为绿绒蒿属植物资源的深入研究和开发利用提供一定的科学依据。

关键词: 绿绒蒿; 聚类分析; DCA 分析; 元素; 电感耦合等离子体发射光谱仪

中图分类号: R284.1

文献标识码: A

DOI: 10.16333/j.1001-6880.2015.12.001

Cluster Analysis and Detrended Correspondence Analysis of 6 *Meconopsis* Species Based on Contents of Elements

SHE Li-ping^{1,2}, LU Xue-feng¹, ZHOU Yu-bi¹, YE Run-rong¹, SUN Sheng-nan^{1,2}, ZHAO Qing-shuai^{1,2}, PENG Min¹, SUN Jing^{1*}

¹Qinghai Key Laboratory of Qinghai Tibet Plateau Biological Resources, Northwest Institute of Plateau Biology, Chinese Academy of Sciences, Xining 810008, China; ²University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China

Abstract: The contents of 15 elements in 6 *Meconopsis* species were determined by inductively coupled plasma optical emission spectrometer (ICP-OES), and the data were analyzed by using PC-ORD data processing program. The results showed that these herbs were all rich in minerals but with a significant difference, and the major ones were in the order of K > Ca > Mg > Fe > Al > Na. Based on the difference of the elements' contents, these tested samples were clustered into 3 groups, the first class contained *Meconopsis quintuplinervia*, *M. henrici*, *M. punicea* and *M. integrifolia*. The others were in the second (*M. horridula*) and the third (*M. racemosa*) team, separately. The elevation of sampling point was found to be inversely associated with the elements' concentration, and other 3 factors presented opposite influence, which indicated by the detrended correspondence analysis. These findings provided some theoretical basis for further study and application of these *Meconopsis* Vig. herbs.

Key words: *Meconopsis* Vig.; cluster analysis; detrended correspondence analysis; elements; ICP-OES

绿绒蒿系罂粟科 (Papaveraceae) 绿绒蒿属 (*Meconopsis* Vig) 植物的统称, 多为一年生或多年生草本植物。该属植物是藏医传统用药, 通常以单味或复方入药^[1,2], 具有抗疲劳、止泻、镇痛和保肝等作用^[3-5]。近年来, 随着藏医药的发展, 人们对绿绒蒿属植物药用价值的认识也逐渐增多, 关于其化学成分的研究也成为了热点。目前, 从绿绒蒿属植物

中分离得到的化学成分主要有生物碱、黄酮及其苷类等^[6-11], 但对于其中所含元素的相关研究还不够深入, 仅有少量报道^[12]。已有研究表明, 药材疗效的发挥与其所含元素的种类和含量密切相关, 不但补充、调节人体所缺乏的微量元素, 也能对各种微量元素在人体新陈代谢中的吸收、排泄速率产生影响。通过络合、螯合等作用, 药材中所含的元素在人体内能间接起到解毒作用, 从而达到治病的目的^[13]。因此, 对药材中所含元素进行分析测定, 可为阐明元素与药材药效间的关系提供一定的理论依据^[14]。

本文运用 ICP-OES 法对采自青海省的六种绿

收稿日期: 2015-06-19 接受日期: 2015-10-21

基金项目: 青海省应用基础研究计划 (2013-Z-755); 国家自然科学基金 (81403051)

* 通讯作者 Tel: 86-971-6143898; E-mail: sunj@nwipb.cas.cn

绒蒿属植物——五脉绿绒蒿 (*Meconopsis quintuplinervia* Regel.)、红花绿绒蒿 (*M. punicea* Maxim.)、总状绿绒蒿 [*M. racemosa* (Maxim.)]、川西绿绒蒿 (*M. henrici* Bur. et Franch)、全缘叶绿绒蒿 [*M. integrifolia* (Maxim.) Franch.] 以及多刺绿绒蒿 (*M. horridula* Hook. f. et Thoms.) 中 15 种元素含量进行了测定, 并利用数量分析方法对其进行聚类分析和 DCA 分析, 阐述其元素主要分布特征, 以期为深入合理的开发利用绿绒蒿属植物资源提供一定的科学参考。

1 材料与amp;方法

1.1 仪器与试剂

Agilent725 系列电感耦合等离子体发射光谱仪 (ICP-OES, 美国 Agilent)。工作条件: 射频发射功率 1300 W; 等离子气流量 0.8 L/min; 辅助气流量 14 L/min; 雾化气流量 0.5 L/min; 观测高度 15 mm; 实验所用气体为氩气; AG135 电子天平 (瑞士 Mettler Toledo); UPT-I-10T 型超纯水机 (上海优普); KQ5200DE 超声波清洗仪 (江苏昆山); pH 酸度计。

16 种待测元素标准溶液浓度均为 1000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (中国计量科学院), 使用时按需稀释; 硝酸、高氯酸等均为优级纯; 试验用水为超纯水 (18.2 $\text{M}\Omega \cdot \text{cm}$)。

pH4.01 标准缓冲液、pH6.87 标准缓冲液、pH9.18 标准缓冲液。

1.2 材料

试验用材料均采自青海省境内, 采样点详情见表 1。同一采集地点至少采集 15~20 株植株个体, 株间距离至少 5 m, 然后混合。在采集植物样品的同时利用手持式 GPS 定位导航仪记录采样点海拔及经纬度, 并利用土钻钻取采样点位置表层至 10 cm 深的土层, 取 5 个点的土壤混合作为土壤样品, 分别装入袋中并标记编号。植物样品带回实验室后, 用超纯水淋洗、阴干后粉碎, 过 100 目筛, 备用。土壤样品风干后过 100 目筛, 参照《GB7859-87 森林土壤 pH 值的测定》测定各样点土样的 pH 值。原植物标本经中国科学院西北高原生物研究所卢学峰副研究员鉴定为罂粟科绿绒蒿属五脉绿绒蒿 (*M. quintuplinervia* Regel.)、红花绿绒蒿 (*M. punicea* Maxim.)、总状绿绒蒿 [*M. horridula* Hook. Thoms. var. *racemosa* (Maxim.) Prain]、川西绿绒蒿 (*M. henrici* Bur. et Franch)、全缘叶绿绒蒿 [*M. integrifolia* (Maxim.) Franch.] 以及多刺绿绒蒿 (*M. horridula* Hook. f. et Thoms.)。

表 1 采样点信息

Table 1 Collecting location of samples

样品名称 Sample	样品来源 Sample sources	海拔 Elevation (m)	经纬度 Coordinates (°)	土样酸碱度 pH
五脉绿绒蒿 (WM)	青海省互助县	3362.8	E: 102.21 N: 37.01	7.15
红花绿绒蒿 (HH)	青海省班玛县	3733.0	E: 100.66 N: 32.89	6.14
总状绿绒蒿 (ZZ)	青海省刚察县	3436.5	E: 102.25 N: 35.68	7.17
川西绿绒蒿 (CX)	青海省循化县	3617.3	E: 102.74 N: 35.57	7.12
全缘叶绿绒蒿 (QY)	青海省尖扎县	3571.6	E: 101.85 N: 35.23	6.52
多刺绿绒蒿 (DC)	青海省称多县	4349.0	E: 97.22 N: 33.55	7.13

1.3 样品消解

准确称取各样品 0.300 g 置于 150 mL 锥形瓶中, 加入 20 mL 混合酸 ($\text{HNO}_3 : \text{HClO}_4 = 4 : 1$), 封口浸泡过夜。次日将锥形瓶置于电热板上, 在 170 $^{\circ}\text{C}$ 左右加热消解, 直至消化液呈无色透明或略带黄色, 蒸发至约 1~2 mL, 冷却至室温后以超纯水转移, 定容到 25 mL 容量瓶中。平行制备 2 份空白待测。

1.4 元素分析线的选择与背景校正

元素分析波长的选择要符合检出限低、灵敏度

高、干扰小等原则。利用 ICP-OES 法进行元素测定时, 每一元素均可以同时选择多条特征谱线, 且光谱仪具有同步自动背景校正功能。考虑到共存元素之间的相互干扰, 实验中对每个被测元素选取了 2~3 条谱线进行测定, 综合考虑分析强度、干扰情况及稳定性等因素, 本文中所选定各元素的分析波长如表 2 所示。同时取 10 次平行测定空白液的结果, 按 IUPAC (国际纯粹与应用化学联合会) 的相关规定得到各元素检出限 (表 2)。

表 2 元素分析线及检出限

Table 2 Detection wavelengths and limits for 15 elements

元素 Elements	分析谱线 Spectral line (nm)	检出限 Detection limits (mg/L)
Al	396.2	0.015
As	189	0.025
Ca	396.8	0.0025
Cd	226.5	0.0002
Cr	357.9	0.0072
Cu	327.4	0.0015
Fe	238.2	0.0012
K	766.5	0.021
Mg	279.6	0.003
Mn	257.6	0.021
Na	589	0.0055
Ni	230.3	0.017
Pb	220.4	0.0097
Se	196	0.002
Zn	213.9	0.011

1.5 标准曲线绘制

将各元素的标准溶液系列(按需稀释配制) 导入仪器进行测定, 得到各元素的标准曲线, 相应的线性相关系数 r 均 ≥ 0.9997 , 线性关系良好(表 3)。根据标准曲线对各样点样品中的 15 种元素进行分析测定。

1.6 精密度和加标回收率试验

对同一份样品进行 7 次重复进样检测, 以测定本方法的精密度; 同时, 取已知元素含量的五脉绿绒蒿样品按照标准加入的方法测定各检出元素的回收率, 如表 4 所示。

1.7 数据分析

所有数据处理工作均在 PC-ORD V5.0 中进行。聚类分析采用 Adjustment to Standard Deviate(即 Z-score 标准化) 对数据进行标准化转换。

2 结果与讨论

2.1 元素含量测定

在已选定的最佳工作条件下, 利用 ICP-OES 测定样品中的 15 种元素含量, 每个样品重复测定 3

表 3 系列标准溶液的标准曲线

Table 3 Standard curves of the standard solution series

元素 Elements	线性方程 Linear equation	相关系数 R	元素 Elements	线性方程 Linear equation	相关系数 R
Al	$Y = 2815X - 62.733$	0.9999	Mg	$Y = 26021X + 12143$	0.9997
As	$Y = 3017.7X + 37.05$	0.9999	Mn	$Y = 4724.7X - 299.28$	0.9999
Ca	$Y = 338289X + 69332$	0.9999	Na	$Y = 4508X - 537.4$	0.9999
Cd	$Y = 74.666X - 16.964$	0.9998	Ni	$Y = 309.49X + 33.514$	0.9999
Cr	$Y = 1800.3X + 341.81$	0.9998	Pb	$Y = 30.132X + 13.781$	0.9999
Cu	$Y = 3002.6X + 369.79$	0.9997	Se	$Y = 24.7X + 39.875$	0.9997
Fe	$Y = 1057.2X + 93.832$	0.9998	Zn	$Y = 1794.7X + 184.59$	0.9998
K	$Y = 781.39X - 7.1952$	0.9999			

表 4 精密度及回收率试验 ($n = 7$)Table 4 Precision and recovery test ($n = 7$)

元素 Elements	样品含量 Sample (mg/L)	加标量 Add (mg/L)	测定含量 Detected (mg/L)	回收率 Recovery (%)	RSD (%)
Al	10.81	10.0	20.25	99.66	1.22
Ca	111.59	100.0	212.00	100.41	1.45
Cr	0.27	2.0	2.19	95.99	1.01
Cu	0.23	2.0	2.24	100.67	1.51
Fe	13.12	20.0	33.11	99.94	0.99

K	424.50	500.0	923.99	99.90	1.23
Mg	26.67	50.0	77.01	100.68	0.79
Mn	0.54	2.0	2.54	99.78	0.94
Na	3.62	2.0	5.66	101.99	1.56
Zn	0.60	2.0	2.61	100.51	1.75

次,计算平均值作为测定结果(表5)。从表5中可以看出,六种绿绒蒿植物中共有10种元素被检出,分别为K、Ca、Na、Mg、Fe、Al、Zn、Mn、Cu和Cr。同一元素在不同绿绒蒿样品中显示出不同的含量水平,但各检出元素含量高低排列顺序在六种植物中基本趋于一致,以含量排序,前6种元素均依次为K

>Ca>Mg>Fe>Al>Na,常量元素中K和Ca的含量均≥8000 mg/kg,Na元素含量相对较低,在86.19~361.32 mg/kg范围内;而微量元素中,含量最低的为Cu和Cr。另外,Ni、Se、As、Cd和Pb元素因含量过低超出检出限而未能检测到。

表5 元素含量测定结果(n=3)
Table 5 Mineral contents in 6 *Meconopsis* species (n=3)

元素 Elements	含量结果 Content (mg/kg)												平均值 Mean
	WM	RSD(%)	HH	RSD(%)	ZZ	RSD(%)	CX	RSD(%)	QY	RSD(%)	DC	RSD(%)	
Al	901.13	1.48	262.86	0.75	1884.67	1.03	479.32	0.31	574.14	0.26	908.31		835.07
Ca	9299.42	2.46	10026.77	0.80	10857.00	0.19	8709.55	0.65	10984.83	0.27	10380.00	0.08	9678.20
Cr	22.52	2.54	17.69	1.39	58.22	1.76	20.43	0.64	23.93	0.48	56.92	0.28	33.29
Cu	18.88	2.96	16.12	0.72	20.17	2.15	17.10	0.58	17.22	1.81	6.73	0.13	16.04
Fe	1093.48	0.82	422.53	0.13	2655.39	0.26	752.71	0.14	807.38	0.14	1733.00	0.53	1244.08
K	35374.76	2.31	22427.50	0.31	37372.30	1.57	31853.21	0.33	22273.33	0.24	27622.97	1.34	29487.34
Mg	2222.68	0.35	2030.75	0.13	2782.26	0.12	2149.52	0.52	1877.93	0.18	2136.00	0.32	2199.86
Mn	45.37	0.65	25.63	0.48	77.87	0.90	36.83	0.25	27.86	0.50	57.80	0.40	45.23
Na	301.69	2.66	161.51	0.49	361.32	1.50	279.59	0.48	148.94	0.47	86.19	0.97	223.20
Zn	49.98	0.47	41.75	0.19	60.07	0.17	62.18	1.04	32.60	1.60	43.44	0.57	48.33

注: Ni、Se、As、Cd和Pb元素因含量低于检出限而未能检测到。
Note: Ni, Se, As, Cd and Pb were too few to be detected.

2.2 聚类分析

采用欧氏距离-Ward's Method分析方法,对6种绿绒蒿元素含量数据进行聚类分析,结果如图1所示。可见在数据信息保留量达到70%左右时,这六种绿绒蒿属植物可以划分为3个不同类群: 1) 第I类群中,红花绿绒蒿和全缘叶绿绒蒿最先聚为一组,该组成员中除了Ca和Cu元素含量高于平均值外,其他元素的含量均低于各元素的平均含量;另外一组则是五脉绿绒蒿和川西绿绒蒿,这两种植物中Cu、Na和Zn元素含量均高于平均水平而Fe和Cr元素的含量低于平均水平;这两组最终因为Fe和Cr元素的含量均低于平均值且Cu的含量高于平均值而划分入同一类群; 2) 第II类群成员仅为多刺绿绒蒿,其K、Mg、Cu和Na元素含量均低于平均值; 3) 总状绿绒蒿则因其各元素含量均高于平均含量

而独成第III类群。

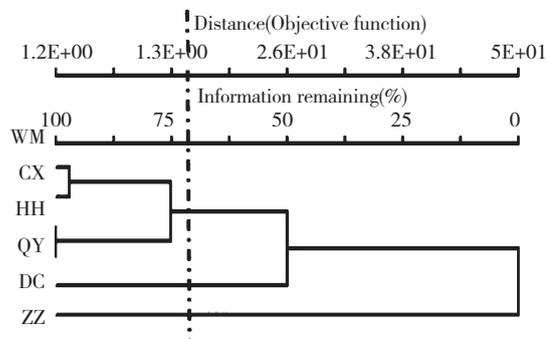


图1 六种绿绒蒿植物类群划分结果

Fig. 1 Cluster analysis based on mineral contents

2.3 DCA分析

以元素含量测定结果(表4)和采样点环境因素(表1)为指标进行的DCA分析结果(图2)显示,六

种绿绒蒿植物中元素的积累都受到环境因素不同程度的影响,以 K、Zn、Cu、Mg、Na、Mn、Ca 元素受环境因素的影响较为显著,Al、Fe 和 Cr 则远离分析区域,所受影响不太明显。从图中还可以看出,采样点海拔与元素含量呈负相关关系,经纬度、土壤 pH 值则呈现正相关影响。例如,随着采样点海拔的升高,K、Zn、Cu 等元素含量呈降低趋势。

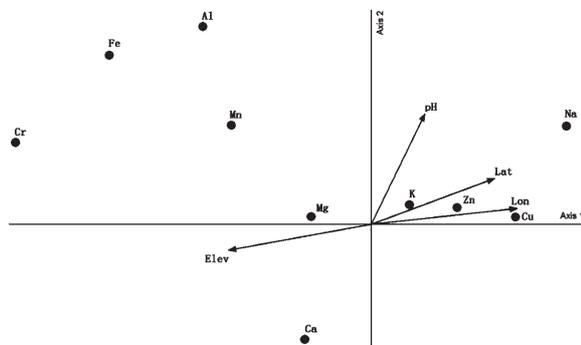


图 2 环境因素对元素影响的 DCA 分析

Fig. 2 DCA based on the environmental factors and mineral contents

3 结论

本文采用湿法消解结合 ICP-OES 测定了六种绿绒蒿属植物中的无机元素组成及含量,并对测定结果进行聚类分析和 DCA 分析,以期能够促进绿绒蒿属药用植物资源的深入研究和开发利用。(1) 在所选定的仪器工作条件下,各元素分析线之间的相互干扰小,对测定结果无明显影响,测定结果准确可靠。(2) 基于元素含量的聚类分析将六种绿绒蒿植物划分为 3 个类群,虽然不同绿绒蒿植物对元素的吸收利用有较大差异,但同一类群中的绿绒蒿植物之间仍有一定的相似性。(3) 以元素含量和环境因素为指标进行的 DCA 分析表明,六种绿绒蒿植物对元素的富集受到生长环境的不同影响,采样点海拔所产生的影响与其余三种因素相反。

参考文献

1 Luo DS (罗达尚), Sun AL(孙安玲), Xia GC(夏光成) *et al.* Investigation on Tibetan medicines *Meconopsis*. *Chin Tradit Herb Drugs*(中草药), 1984, 15(8): 23-24.

2 Wu ZY (吴征镒), Zhuang X (庄璇), Sun BX (孙必兴), *et al.* *Flora Reipublicae Popularis Sinicae* (中国植物志). Beijing: Science Press, 1999. 32: 7-38.

3 Yang YC(杨永昌). *Tibetan Medicines*(藏药志). Xining: Qinghai People's Publishing House, 1991. 465-467.

4 Wu HF(吴海峰), Ding LS(丁立生), Wang H(王环) *et al.* *Advances in the research of phytochemistry and pharmacology of Meconopsis Vig. Nat Prod Res Dev*(天然产物研究与开发), 2011, 23: 163-168.

5 Wang ZM (王子敏). *Advances in the research of phytochemistry and biological activity of Meconopsis*. *West Chin J Pharm Sci*(华西药科学杂志), 2010, 25: 759-761.

6 Takeda K, Yamaguchi S, Iwata K *et al.* A malonylated anthocyanin and flavonols in the blue flower of *Meconopsis*. *Phytochemistry*, 1996, 42: 863-865.

7 Shang XY, Jiao HS, Yang YC *et al.* A morphinane alkaloid from *Meconopsis quintuplinervia*. *Chin Chem Lett*, 2003, 14: 597-598.

8 Shang XY, Wang YH, Li C *et al.* Acetylated flavonol diglucosides from *Meconopsis quintuplinervia*. *Phytochemistry*, 2006, 67: 511-515.

9 Liu SY(刘松渝), Wang XK(王宪楷). Studies on chemical constituents of Tibetan medicine *Meconopsis punicea*. *Zhong Yao Tong Bao* (中药通报), 1986, 11(6): 40-42.

10 Wu HF(吴海峰), Pan L(潘莉), Ding LS(丁立生) *et al.* Chemical constituents of a Tibetan medicine *quintuplinervia* Regel. *Nat Prod Res Dev*(天然产物研究与开发), 2007, 19: 811-813.

11 Fu Y(傅予), He ZZ(何芝洲), Bai Y(白央), *et al.* Chemical constituents from *Meconopsis integraviva*. *J Medic Pharm Chin Minori*(中国民族医药杂志), 2010, 2: 46-48.

12 Peng BZ(彭宝珠), Wang T(王涛), Ma J(马骥). Preliminary analysis on *Meconopsis* Tibetan inorganic elements. *J Chin Med Mater*(中药材), 1995, 18: 302-303.

13 Cao JH(曹继华), Wang ZY(王正益), Wang Q(王勤). Elements in traditional Chinese medicine and health. *Guangdong Trace Elem Sci* (广东微量元素科学), 1996, 6(10): 10-12.

14 Wang G(王刚), Chen RD(陈荣达), Lin BC(林柄承). Advances in the research of trace elements in traditional Chinese medicine. *Chin J Pharm Anal*(药物分析杂志), 2002, 22: 151-155.