

# 福建泽泻元素分析及其属性判别研究

陈发荣<sup>1,2</sup> 何鹰<sup>1,2\*</sup> 邱招钗<sup>1</sup> 黎先春<sup>2</sup> 王小如<sup>1,2</sup>

(1. 厦门大学化学化工学院 现代分析科学教育部重点实验室 厦门 361005;

2. 国家海洋局第一海洋研究所 现代分析技术及中药标准化重点实验室 青岛 266061)

**摘要** 利用电感耦合等离子体质谱(ICP-MS),对福建建瓯产大叶、小叶泽泻中17种元素的含量进行了测定,在此基础上,运用SAS软件的DISCRIM过程对两类泽泻样品进行了判别分析,取得了良好的分类判别结果,利用上述方法得到的泽泻元素含量分布图谱有可能为中药材指纹图谱的建立及其规范化种植提供新的途径。

**关键词** 泽泻;金属元素;电感耦合等离子体质谱;判别分析

## DETERMINATION OF ELEMENTS' CONTENT OF RHIZOME ALISMATICS IN FUJIAN AND ITS CLASSIFICATION DISCRIMINATION

CHEN Fa-rong<sup>1,2</sup>, HE Ying<sup>1,2\*</sup>, QIU Zhao-chai<sup>1</sup>, LEE Frank SC<sup>2</sup>, WANG Xiao-ru<sup>1,2</sup>

(1. The Key Laboratory of Modern Analytical Science of MOE, College of Chemistry and Chemical Engineering, Xiamen University, Xiamen 361005, China;

2. Analytical Technology Development & Standardization of Chinese Medicine Laboratory, First Institute of Oceanography, State Oceanic Administration, Qingdao 266061, China)

**Abstract** 17 element contents of *Rhizoma alismatics* in Jianou Fujian were determined by ICP-MS. On the basis of the results, the classification discrimination of the two sorts of Rhizome Alismatics, which were *Alisma orientale* (Sam.) Juzep and *Alisma canaliculatum* A. Braun et Bouche, respectively, was obtained by the software of the SAS. The distribution curve of elements' content measured in Rhizome Alismatics may provide probably a new way for the standardization growth and the fingerprint foundation of Traditional Chinese Medicine.

**Key words** *Rhizome alisma*; metal elements; ICP-MS; classification discrimination

中药泽泻为泽泻科泽泻植物 *Alisma plantago-aquatica* L. var. *orientale* Sam. 的干燥块茎。泽泻喜温和、阳光充足的沼泽地,常栽培于海拔800米以下的水田。泽泻主要分为“建泽泻”和“川泽泻”,建泽泻乃福建省地道药材,久负盛名,为历代贡品,远销海内外。其商品以建瓯市吉阳所产之品质最佳,以泽泻之乡誉满海外。

目前已发现泽泻块茎中含有的有机物为:挥发油(内含糖醛)、少量生物碱、天门冬素、一种植物甾醇苷、脂肪酸(棕榈酸、硬脂酸、油酸、亚油酸)、树脂、

蛋白质、淀粉和5种三萜类化合物[泽泻醇(alisol) A、B,泽泻醇A乙酸酯、B乙酸酯,表泽泻醇A];4种倍半萜A~D、尿苷、tymidine、β-谷甾醇3-O-硬脂酸酯、正二十三烷、β-谷甾醇+硬脂酸甘油酯、胡萝卜苷6-O-硬脂酸酯、大黄素、泽泻醇C单乙酸酯和环氧泽泻烯(alismoxide)等<sup>[1]</sup>。对泽泻易混淆品、对照品的薄层色谱、高效液相色谱、紫外光谱、红外光谱、质谱和氢谱的研究已有多位学者研究报告<sup>[2,3]</sup>。但对泽泻块茎中无机金属元素的研究及其利用泽泻块茎中金属元素的含量分布作为指纹图谱判别不同种类泽泻块茎鲜有报道。本文利用ICP-MS测定了来自福建建瓯泽泻中药材基地的89株大叶、小叶泽泻块茎中的17种金属元素的含量,并尝试利用判别分析(DISCRIM)过程对两种泽泻块茎进行判别分类,获得了较好的判别效果。

收稿日期:2003-06-06 接受日期:2003-10-22

基金项目:福建省青年科技人才创新基金项目(2001J053);福建泽泻GAP重点项目资助

\* 通讯作者 E-mail: heyings@fio.org.cn

# 1 实验方法

## 1.1 材料与仪器

Agilent 4500 ICP-MS 电感耦合等离子体质谱仪; MilliQ 超纯水装置; METTLER AJ100 电子天平; LD-06A 中药粉碎机; 烘箱; 电热板;

实验所用试剂均为优级纯试剂; 超纯水(18 MΩ·cm) 由去离子水经 MilliQ 超纯水装置制得。

## 1.2 ICP-MS 工作参数

处理好的样品按表 1 仪器工作参数进行 ICP-MS 测定。

表 1 ICP-MS 工作参数

Table 1 ICP-MS operating conditions

项目 Parameters	参数 Values	项目 Parameters	参数 Values
RF power	1200 W	Sample uptake rate	1.0 ml/min
Sampling depth	6.5 mm	Acquisition Mode	quantity
Plasma gas	16.0 L/min	Points/mass	3
Auxiliary gas	1.00 L/min	Scan mode	jump
Carrier gas	1.00 L/min	Dwell time	30 ms
Diameter of Sampler	1.0 mm	No. of replicates	3
Diameter of Skimmer	0.8 mm	Integration time	0.3 s

## 1.3 样品采集与处理方法

采集建瓯吉阳泽泻基地 50 亩大叶和小叶泽泻块茎共计 89 株, 用软细毛刷将块茎表面泥土清洁干净, 用粉碎机粉碎后, 过 60 目筛, 在低于 40℃ 的烘箱中烘干过夜, 样品保存在干燥器中备用。

准确称取 0.3000 g 经过上述处理的泽泻样品于 100mL 玻璃烧杯中, 加入 8 mL 硝酸, 2 mL 双氧水, 盖上表面皿, 放置过夜, 次日在电热板上加热溶解至溶液澄清透明, 用超纯水定容至 50 mL, 移至聚乙烯塑料瓶中待测。同时用空白试液按同样方法处理。

# 2 结果与讨论

## 2.1 不同生长周期金属元素含量的比较

在泽泻种苗生长 3 个月后将开始采集泽泻块茎, 每星期采集一定株数, 连续采集 16 周至成熟采收, 共获得 16 个小叶泽泻样本, 15 个大叶泽泻样本。31 组泽泻样本元素分析结果见表 2。

表 2 不同生长周期元素含量的变化(mg/kg)

Table 2 The change of metal contents in different growth period(mg/kg)

编号 No.	日期 Date	类别 Category	Mg	Ca	Mn	Al	Fe	Zn	Ba	Sr	Cu
S1	021110	小叶	1372.5	882.5	282.3	25.68	87.07	57.25	31.45	12.31	8.202
S2	021119	小叶	1596.3	1271.7	322.1	46.88	115.4	64.25	43.84	17.15	9.163
S2	021128	小叶	1790.6	1293.7	339.4	41.37	92.72	80.85	37.25	18.01	10.33
S4	021206	小叶	1854.1	1570.2	314.1	44.09	102.3	79.76	55.56	20.96	13.79
S5	021213	小叶	1788.5	1420.7	339.5	24.14	105.1	85.37	54.94	21.42	15.32
S6	021220	小叶	1940.9	1358.5	247.5	35.62	78.08	70.05	46.94	18.25	14.96
S7	021227	小叶	2068.9	1328.2	294.1	15.77	94.03	78.03	42.72	18.97	16.09
S8	030103	小叶	2158.8	1403.3	221.3	15.33	80.75	86.72	35.89	16.96	13.79
S9	030110	小叶	2338.3	1428.5	243.2	18.63	65.51	83.01	36.69	15.01	14.46
S10	030117	小叶	2534.1	1172.7	156.6	18.54	61.64	96.88	17.25	15.04	16.86
S11	030124	小叶	2585.4	1243.1	224.9	35.34	81.48	70.18	21.79	11.38	10.56
S12	030202	小叶	2374.9	1170.3	174.2	23.52	76.24	57.57	21.01	11.66	10.08
S13	030209	小叶	2355.2	1138.2	164.4	16.97	61.09	75.72	24.01	9.153	9.733
S14	030216	小叶	2444.9	1066.9	220.7	21.81	59.41	60.06	24.21	8.699	14.8
S15	030222	小叶	2554.5	1199.9	161.9	17.46	71.61	63.01	16.29	11.08	9.809
S16	030301	小叶	2407.2	1069.3	196.4	11.38	63.21	62.58	17.18	8.856	11.84
S17	021110	大叶	1401.9	1104.2	322.1	87.13	150.6	51.42	27.46	11.42	6.047
S18	021119	大叶	1633.9	1234	233.8	92.52	139.4	49.65	27.87	10.51	7.255
S19	021128	大叶	1988.1	1117.9	174.8	55.11	100.3	49.34	17.92	10.24	7.765
S20	021206	大叶	2105.9	1060.9	243.5	25.66	95.12	46.29	21.87	9.951	8.908
S21	021213	大叶	1979.6	1180.1	194.8	14.43	79.37	49.24	21.44	10.81	9.658
S22	021220	大叶	1846.6	1076.3	202.9	9.65	87.48	41.18	24.66	9.278	12.13
S23	021227	大叶	1851.7	1079.1	203.5	9.65	87.71	41.24	24.72	9.303	12.17
S24	030103	大叶	2109.4	1061.8	165.3	29.38	52.36	38.46	20.41	8.898	10.43
S25	030110	大叶	2192.3	1069.1	143.5	15.73	68.34	44.38	17.31	9.34	9.19
S26	030117	大叶	2508.2	1169.9	124.2	8.74	58.25	57.01	14.28	8.325	13.05
S27	030124	大叶	2181.7	1191.3	210.7	14.71	95.65	54.8	19.04	10.88	10.12
S28	030202	大叶	2224.1	1013.9	152.9	23.98	68.84	53.25	15.06	9.127	8.685
S29	030209	大叶	2412.0	1090.5	144.1	15.96	66.01	52.23	17.67	9.022	11.04
S30	030216	大叶	2293.4	1054.8	104.6	12.94	67.94	53.52	17.66	8.135	11.57
S31	030222	大叶	2604.0	1164.3	161	16.02	56.48	53.66	17.88	11.72	9.339

续表 2

编号 No.	日期 Date	类别 Category	Ni	Pb	V	Cr	Co	As	Se	Cd
S1	021110	小叶	1.091	1.232	0.019	0.626	0.272	0.265	0.044	0.109
S2	021119	小叶	1.586	1.359	0.041	0.649	0.353	0.275	0.045	0.173
S2	021128	小叶	1.566	0.995	0.021	0.667	0.247	0.272	0.031	0.161
S4	021206	小叶	2.021	1.252	0.017	0.616	0.332	0.246	0.039	0.225
S5	021213	小叶	2.078	1.109	0.011	0.472	0.244	0.465	0.041	0.241
S6	021220	小叶	1.725	1.086	0.006	0.569	0.281	0.328	0.041	0.225
S7	021227	小叶	2.143	1.206	0.006	0.533	0.327	0.301	0.041	0.242
S8	030103	小叶	1.983	0.846	0.005	0.535	0.295	0.211	0.028	0.232
S9	030110	小叶	1.546	0.968	0.005	0.525	0.254	0.171	0.028	0.251
S10	030117	小叶	3.801	0.595	0.007	0.478	0.353	0.207	0.028	0.211
S11	030124	小叶	1.693	0.343	0.012	0.528	0.379	0.115	0.006	0.143
S12	030202	小叶	1.619	0.284	0.005	0.362	0.343	0.096	0.011	0.136
S13	030209	小叶	1.706	0.316	0.004	0.428	0.227	0.156	0.012	0.159
S14	030216	小叶	1.937	0.627	0	0.548	0.256	0.131	0.018	0.153
S15	030222	小叶	1.362	0.338	0.001	0.455	0.137	0.176	0.011	0.131
S16	030301	小叶	2.06	0.269	0	0.293	0.209	0.172	0.011	0.124
S17	021110	大叶	1.214	0.309	0.067	1.013	0.388	0.12	0.011	0.08
S18	021119	大叶	1.391	0.539	0.061	1.253	0.229	0.122	0	0.084
S19	021128	大叶	1.05	0.102	0.036	0.587	0.148	0	0	0.079
S20	021206	大叶	1.23	0.293	0.013	0.424	0.171	0	0	0.122
S21	021213	大叶	1.275	0.322	0.004	0.301	0.118	0.032	0	0.107
S22	021220	大叶	1.212	0.255	0	0.371	0.181	0	0	0.12
S23	021227	大叶	1.215	0.256	0	0.372	0.182	0	0	0.121
S24	030103	大叶	1.058	0.139	0	0.407	0.139	0.003	0	0.102
S25	030110	大叶	1.182	0.208	0.002	0.369	0.159	0	0.006	0.097
S26	030117	大叶	1.11	0.128	0	0.335	0.146	0	0.017	0.103
S27	030124	大叶	1.443	0.166	0.003	0.377	0.209	0.003	0	0.095
S28	030202	大叶	1.286	0.153	0.003	0.367	0.166	0	0.003	0.095
S29	030209	大叶	1.268	0.115	0.001	0.336	0.216	0	0.003	0.112
S30	030216	大叶	1.287	0.164	0	0.398	0.211	0	0	0.125
S31	030222	大叶	1.475	0.117	0	0.412	0.153	0.051	0	0.113

以采集日期与元素含量作图, 得到图 1、图 2 和

图 3。

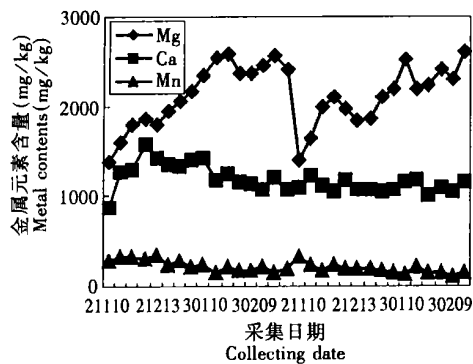


图 1 不同生长时期金属元素含量的变化

Fig. 1 The change of metal contents in different growth period (mg/kg)

从图 1、2、3 中可以看出, 金属镁是所有被测定元素中浓度最大的, 并且金属镁在泽泻生长期内的含量呈现一定的规律性变化, 即无论是大叶还是小叶泽泻, 在整个采集期内, 其含量是逐渐增加的。当泽泻成熟后, 在采收期时, 其含量不再有大变化。这种变化规律可能与镁元素在泽泻中的某种有效药用成分有一定的联系。利用此方法可以大致判断泽泻的成熟与否。钙和锰的含量在被测元素中分列第

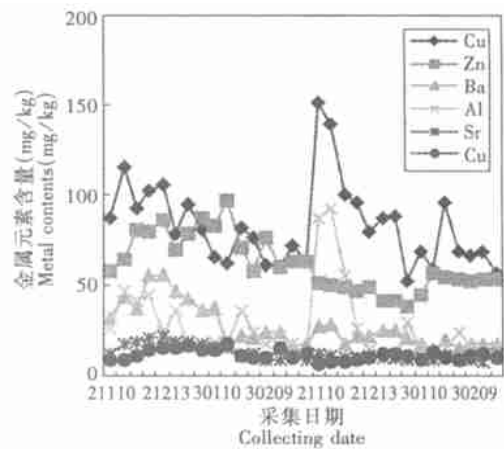


图 2 不同生长时期金属元素含量的变化

Fig. 2 The change of metal contents in different growth period (mg/kg)

二和第三, 但它们的变化规律与镁明显不同, 即在整个采集期内, 钙和锰在泽泻中的含量变化不大。从图 2 中可以看出, 金属铁在采集期内呈现逐渐下降趋势, 这一点在大叶泽泻中表现更为明显; 另外, 在小叶泽泻中, 金属锌的含量几乎都要高于大叶泽泻中锌的含量; 这种现象在图 3 中的金属镍和金属铅也呈现出类似的变化规律; 钴、砷、铜和镉含量的在

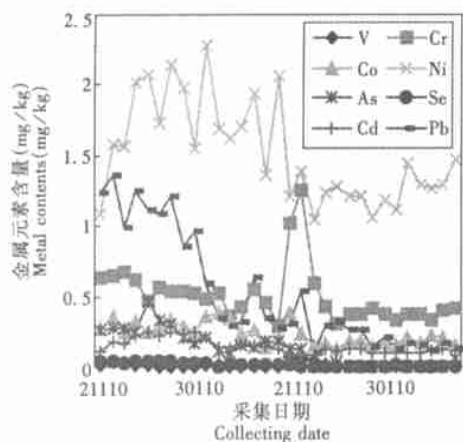


图3 不同生长时期金属元素含量的变化

Fig. 3 The change of metal contents in different growth period (mg/kg)

两种泽泻中含量变化不大。

2.2 成熟样品金属元素含量的测定比较

若以采集期最后 4 周的泽泻作为成熟样品, 将

所测定的结果平均后, 得到表 3 的结果。

从表 3 中可以看到, 福建建瓯吉阳成熟大叶、小叶泽泻样品中各种元素含量相差不大, 与文献值<sup>[4]</sup>相比较时发现, 建瓯泽泻中金属镁的含量是文献报道值近二倍, 文献值中的铁含量是建瓯的近 4 倍, 除此之外, 一些重金属元素的浓度也明显高于建瓯, 如铬、镉、钒、铅和铜; 文献中的其它一些元素, 如锌、锰、钴和锶却相差不多。

2.3 大叶和小叶泽泻样品的判别分析

为了进一步研究大叶和小叶泽泻之间的区别, 我们利用 NICOLET 360N 近红外光谱仪对上述两类 89 株泽泻样品进行了测定, 将所测定的近红外光谱, 用聚类分析过程可以很好的将大叶和小叶泽泻进行分类, 此文已另行发表。受此启发, 我们同时将上述样品的元素测定值, 利用 DISCRIM 过程进行判别分析, 也取得了同样的分类效果。具体方法如下:

表 3 成熟泽泻样品元素含量比较

Table 3 The comparison of element contents in *Rhizoma alismatis* grown

泽泻	Al	As	Ba	Ca	Cd	Co	Cr	Cu	Fe	Mg	Mn	Ni	Pb	Se	Sr	V	Zn
文献			7.49	1611.95	0.55	0.3	1.12	27.5	212.76	1255.59	187.05	2.56	1.48	0.0003	13.5	0.48	60.48
大叶	17.22	0.01	17.06	1080.87	0.11	0.18	0.37	10.15	64.81	2383.37	140.65	1.32	0.13	0.0015	9.50	0.001	53.16
小叶	16.90	0.15	20.42	1118.57	0.14	0.20	0.43	11.54	63.83	2440.45	185.85	1.76	0.38	0.013	9.44	0.001	65.34

由于在实际测定的数据之间可能彼此相关, 选择其中相互独立的几个元素用于建立判别函数式, 不仅函数形式会更简单, 而且效果也会更好。在建立判别函数之前, 用 SAS 系统中的 stepdisc 过程实现逐步判别分析, 通过入选水平 sle 和剔除水平 sls 对变量进行预筛选。建立第一个判别过程 discrim, 是对单变量元素 Zn 进行判别分析, 并建立关于 Zn 的判别函数式; 建立第二个判别分析过程 discrim, 是对

其中 7 个被测元素进行判别分析, 并建立关于它们的判别函数式; 建立第三个判别分析过程 discrim, 是对所有 17 个被测元素进行判别分析, 并建立关于它们的判别函数式, 同时输出数据集 plotjuzep, 当对数据计算后的协方差矩阵不满足齐性时, 此 plotjuzep 数据集能获得二次型判别函数的系数。主要分析结果如表 4 所示。

表 4 使用单变量、多变量进行判别分析的部分结果

Table 4 The results of univariate discriminant analysis and multivariate discriminant analysis

The SAS System					
STEPDISC Procedure					
The Method for Selecting Variables is STEPWISE					
Observations	89			Variable(s) in the Analysis	17
Class Levels	2			Variable(s) will be Included	0
Significance Level to Enter	0.3			Significance Level to Stay	0.05
Class Level Information					
sample	Name	Frequency	Weight	Proportion	
big	big	45	45.0000	0.505618	
small	small	44	44.0000	0.494382	
The DISCRIM Procedure					
Classification Results for Calibration Data: WORK.JUZEP					
Cross-validation Results using Quadratic Discriminant Function					
	From	into			
Obs	sample	sample	big	small	

The SAS System				
33	small	big*	0.7400	0.2600
34	small	big*	0.6725	0.3275
35	small	big*	0.6935	0.3065
39	small	big*	0.7130	0.2870
41	small	big*	0.5536	0.4464
44	small	big*	0.7795	0.2205
49	big	small*	0.2368	0.7632
59	big	small*	0.4296	0.5704
88	big	small*	0.2297	0.7703
* Misclassified observation				
Error Count Estimates for sample				
big	small	Total		
Rate	0.0667	0.1364	0.1015	
Priors	0.5000	0.5000		
Classified 2				
Obs	From	into	big	small
33	sample	sample		
	small	big*	0.7385	0.2615
80	big	small*	0.2398	0.7602
88	big	small*	0.0704	0.9296
* Misclassified observation				
Error Count Estimates for sample				
big	small	Total		
Rate	0.0444	0.0227	0.0336	
Priors	0.5000	0.5000		
Classified 3				
Obs	From	into	big	small
43	sample	sample		
	small	big*	0.8466	0.1534
74	big	small*	0.0000	1.0000
* Misclassified observation				
Error Count Estimates for sample				
big	small	Total		
Rate	0.0222	0.0227	0.0225	
Priors	0.5000	0.5000		

从表 4 中的结果可以看到, Zn 元素具有显著区别两组泽泻的能力。利用二次判别函数导出互相证实的结果(cross validation results)。所谓互相证实,就是在共有 N 个样品中,每次留下一个样品作为新样品,由 N-1 个样品建立判别函数,然后将留下的这个样品代入判别函数,判别其属性。对每一次样品都留下来一个作为新样品来判别其归属。这样有利于减小用全部数据建立的判别函数再对全部数据进行回代判别所产生的偏差。误判率= 0.1015,共有  $89 \times 0.1015 = 9$  例误判,其中, 33, 34, 35, 39, 41, 44 为小叶泽泻误判为大叶泽泻; 49, 59, 88 为大叶泽泻,误判为小叶泽泻,总符合率= 90%。以同样方法,用 Zn Cd Cr Cu V Ni As 等 7 元素作为多变量,建立判别函数式,可以给出更好的判别结果。误判率= 0.0336,  $89 \times 0.0336 = 3$  例误判,符合率= 96%。而如果将所有被测元素作为变量代入判别函数式进行判别,其误判率= 0.0225,只有 2 例误判。显然这样的结果要比用单变量建立的函数判别式进行分类要更加准确。

### 3 结论

根据 ICP-MS 对福建建瓯吉阳产 31 组泽泻样

本元素分析结果,发现泽泻在最后被采收前 3 个月内,金属镁含量逐渐升高,成熟期内,其含量不再有大的变化,泽泻中元素含量及其比例变化规律构成了如同红外光谱、紫外光谱中的指纹图谱,此变化规律可以用来判断泽泻药材的成熟性、道地性。借助于 SAS 软件,通过 DISCRIM 过程,首次利用对泽泻元素分析结果,将被测元素作为变量,对建瓯吉阳产 89 株大叶、小叶泽泻进行分类判别分析取得了良好判别结果,判别分析过程研究表明,所测定元素种类越多,建立的判别函数式就越能够准确地进行分类判别,因此,该方法有可能为中药材指纹图谱的建立及其规范化种植提供新的途径。

#### 参考文献

- 1 彭国平,潘林梅,文红梅.泽泻的对照品研究.南京中医药大学学报,2001,3: 154-156
- 2 彭国平,楼凤昌.泽泻化学成分的研究.天然产物研究与开发,2001,13(3): 1-3
- 3 吴启南,王立新,彭国平.一种泽泻混淆品的鉴定研究.南京中医药大学学报,2002,18(6): 351-352
- 4 龚树生,张建军,曹广智等.泽泻的历史及生物活性成分研究进展.山西中医学院学报,2000,3: 25-28