

ICP-MS 结合化学模式识别分析野生地黄产区土壤中矿物元素分布特征

任盼莹^{1,2}, 程梦娟², 王丰青³,

龚海燕², 刘庆普², 雷敬卫², 张娟^{2*}, 谢彩侠^{1,2*}

¹河南中医药大学 豫药全产业链研发河南省协同创新中心; ²河南中医药大学 河南省中药质量控制与评价工程技术研究中心; ³河南农业大学农学院, 郑州 450046

摘要: 为了分析野生地黄主要产区土壤中矿物元素含量分布特征, 本研究采用微波消解-电感耦合等离子体质谱分析法 (inductively coupled plasma-mass spectrometry, ICP-MS) 对野生地黄产区土壤中矿物元素含量进行测定, 结合层次聚类分析 (hierarchical cluster analysis, HCA)、主成分分析 (principal component analysis, PCA)、相关性分析 (correlation analysis, CA) 等多元统计学方法对测定结果进行分析。结果表明 35 批野生地黄产区土壤中共检测出 19 种矿物元素, 其中常量元素 K 含量最高, 微量元素 Fe、Al、Ti 的含量较高; PCA 和 HCA 分析表明, 河南与其他产地野生地黄产区土壤中矿物元素特征存在差异, 各自聚为一类, 其中 Ti、Al、Mn、B、As、Mo、Cd、Sn 元素含量存在显著差异; 海拔高度对野生地黄分布土壤中矿物元素含量的影响和分布地域有一定关系; 相关性分析表明, 野生地黄产区土壤中元素 Mg 含量与 K、Al、Sr 呈显著正相关, 元素 V 含量和 Cr、Ni、Co 呈显著正相关, 元素 Sr 含量与 Cr、V 元素呈显著负相关。因此, 野生地黄产区土壤中矿物元素含量分布特征具有一定地域性, 河南产地与其他产地野生地黄产区土壤中矿物元素含量存在差异, 土壤中部分元素的含量之间存在显著相关性。

关键词: 野生地黄; 土壤; 矿物元素; ICP-MS; 多元统计分析

中图分类号: R284.1 文献标识码: A

Analysis of distribution characteristics of mineral elements in the soil of wild *Rehmannia glutinosa* production area by ICP-MS combined with chemical pattern recognition

REN Pan-ying^{1,2}, CHENG Meng-juan², WANG Feng-qing³,

GONG Hai-yan², LIU Qing-pu², LEI Jing-wei², ZHANG Juan^{2*}, XIE Cai-xia^{1,2*}

¹Collaborative Innovation Center of Research and Development on the Whole Industry Chain of Yu-Yao, Henan University of Chinese Medicine; ²Henan Engineering Technology Research Center for TCM Quality Control and Evaluation, Henan University of Chinese Medicine; ³College of Agronomy, Henan Agricultural University,

Zhengzhou 450046, China

Abstract: In this study, the mineral element contents in the soil of wild *Rehmannia glutinosa* production area was determined with microwave digestion-inductively coupled plasma-mass spectrometry(ICP-MS), and the distribution characteristics of the mineral element contents in the soil of the main production areas for wild *R. glutinosa* were analyzed with combined multivariate statistical method including hierarchical clustering analysis (HCA), principal component analysis (PCA), correlation analysis (CA), and so on. The results showed that 19 mineral elements were detected in 35 batches of soil from wild *R. glutinosa* production area. The content of the macronutrient element K was the highest. The content of the trace elements Fe, Al and Ti was higher than that of

other elements except K. PCA and HCA results indicated that there was difference in the content of soil mineral elements between Henan and other wild *R.glutinosa* production areas, and they were grouped into two different categories. The content of Ti, Al, Mn, B, As, Mo, Cd and Sn in the soil of Henan area was remarkably different with that of other areas. The influence trend of the altitude on the content of mineral elements in the soil of wild *R.glutinosa* production area was different with regionality. Correlation analysis results showed that, the content of Mg in the soil was significantly positive-correlated with K, Al and Sr, the content of V was significantly positive-correlated with Cr, Ni and Co, and the content of Sr was significantly negative-correlated with Cr and V. In conclusion, the distribution of mineral elements in the soil of wild *R.glutinosa* production area is characterized by regionality. the contents of mineral elements in the soil of wild *R.glutinosa* production area in Henan is different from that of other production areas, and the contents of some elements in the soil have a significant correlation with each other.

Key words: Wild *Rehmannia glutinosa*; soil; mineral elements; ICP-MS; multivariate statistical analysis

中药地黄为玄参科植物地黄 (*Rehmannia glutinosa* Libosch) 的新鲜或干燥块根, 为我国传统大宗药材, 始载于《神农本草经》, 列为上品, 具有清热凉血、养阴生津的功效^[1]。地黄中主要有环烯醚萜苷类、苯乙醇苷类及糖类等化学成分^[2-4], 有调节血脂、抗衰老、抗肿瘤、抑菌和抗胃溃疡及保护胃黏膜等作用^[5,6]。《本草经集注》中“案诸药所生, 皆的有境界”阐释了中药材质量特征受其生长环境影响。中药材的品质不仅和自身遗传因素有关, 还受生态环境如土壤因子、气候因子以及人为因素等影响, 其中矿物元素是土壤因子的重要组成部分^[7]。有学者^[8]研究发现中药材土壤中矿物元素种类丰富, 且部分化学成分受某些特定矿物元素的影响较为显著, 如丹参药材中的丹参酮类成分与土壤中矿物元素呈显著相关, 由此矿物元素在一定程度上可以作为中药材质量评价的指标。研究表明, 矿物元素与中药材的药性、功效、化学成分以及毒性密切相关, 因此中药材质量和矿物元素含量息息相关, 最终会对其质量产生影响^[9,10]。

随着中药研究的不断深入, 中药材及其土壤中矿物元素的研究受到越来越多的关注, 目前关于矿物元素的分析主要采用原子荧光光谱法、原子吸收光谱法、电感耦合等离子体发射光谱法以及电感耦合等离子体质谱法 (inductively coupled plasma-mass spectrometry, ICP-MS) ^[11]。土壤中矿物元素种类繁多, 含量差异较大, ICP-MS 法具有多元素分析、高灵敏度、高选择性、高重现性和低检测限等优势^[12], 能很好地解决土壤中矿物元素分析难题, 研究发现 ICP-MS 法广泛应用于黄精、明党参等中药及其土壤中矿物元素的测定。野生地黄资源分布较广, 不同分布区域土壤中的矿物元素可能存在差异, 近年来, 国内外学者对地黄矿物元素的研究主要集中在栽培地黄, 有关野生地黄产区土壤中矿物元素的研究鲜有报道。因此, 本研究通过 ICP-MS 法测定野生地黄产区土壤中矿物元素的含量, 结合

化学模式识别中的层次聚类分析 (hierarchical cluster analysis, HCA)、主成分分析 (principal component analysis, PCA) 和正交偏最小二乘判别分析 (orthogonal partial least squares discriminant analysis, OPLS-DA) 等方法, 研究不同产地野生地黄产区土壤中矿物元素含量的相关性和差异性, 旨在探讨野生地黄质量差异的形成因素, 为地黄质量控制及规范化栽培提供理论指导。

1 材料与方法

1.1 样品

野生地黄产区土壤样品采集地信息见表 1。每个采样点选择 10 个点, 采用五点取样法取野生地黄分布区域的耕层土壤, 将取到的样品充分混合, 按四分法弃去多余部分, 保留约 1 kg 左右, 阴干粉碎过 100 目筛备用。

表 1 样品采集地点信息
Table 1 The information of samples location

编号 No.	采集地点 Collection location	海拔高度 Altitude (m)	编号 No.	采集地点 Collection location	海拔高度 Altitude (m)
S1	河南省新乡市辉县市	93	S19	山东省泰安市泰山区	133
S2	河南省洛阳市汝阳县	331	S20	山东省泰安市泰山区	133
S3	河南省郑州市巩义市	279	S21	河南省济源市克井镇	202
S4	河南省漯河市临颖县	67	S22	河南省焦作市武陟县	997
S5	河南省三门峡市卢氏县	570	S23	河南省焦作市武陟县	397
S6	河南省平顶山市鲁山县	130	S24	河南省焦作市武陟县	104
S7	湖北省十堰市丹江口市均县镇	110	S25	河南省焦作市焦作北山	229
S8	河北省邯郸市丛台区	49	S26	河南省焦作市焦作北山	378
S9	河北省衡水市阜城县	19	S27	河南省焦作市焦作北山	847
S10	河北省衡水市景县	17	S28	河南省焦作市沁阳市神农山	969
S11	山西省长治市沁县	967	S29	河南省焦作市沁阳市神农山	390
S12	山西省运城市平陆县	404	S30	河南省焦作市沁阳市神农山	307
S13	山西省临汾市隰县	1026	S31	河南省焦作市沁阳市神农山	231
S14	北京市平谷区	74	S32	河南省焦作市修武县	59
S15	天津市宝坻区	8	S33	河南省焦作市修武县	75
S16	陕西省商洛市丹凤县	559	S34	河南省焦作市修武县	75
S17	陕西省商洛市商南县	447	S35	河南省焦作市修武县	75
S18	陕西省商洛市镇安县	617			

1.2 仪器与试剂

ICAPRQ 电感耦合等离子体质谱仪 (赛默飞世尔科技有限公司); ME204E 万分之一天平 (梅特勒-托利多有限公司); MARS-2 高通量密闭高压微波消解仪 (美国 CEM 公司),

GS25 石墨赶酸仪（奥普乐科技集团有限公司）；5 mL 移液枪（北京大龙兴创实验仪器有限公司）；100~1 000 μL 移液枪（德国艾本德公司）。硝酸（分析纯，批号 K53975256，德国默克公司）；氢氟酸（优级纯，批号 10011108，国药集团化学试剂有限公司）；30%过氧化氢（优级纯，Alfa Aesar 化学有限公司，批号 5001R18Q）；屈臣氏蒸馏水；多元素标准溶液（含量为 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ，批号 GNM-M248540，国家有色金属及电子材料分析测试中心）。

1.3 方法

1.3.1 ICP-MS 条件

等离子体气流量 14.0 L/min，载气流速 0.8 L/min，载气为高纯氩气（纯度 99.99%），辅助气 1.0 L/min，入射功率 1 550 W，重复扫描 3 次。

1.3.2 土壤样品消解液制备

参照相关文献^[13-15]制备土壤样品消解液，具体方法如下：取 0.2 g 土壤样品，精密称定重量，置于消解管中，加入硝酸 7 mL 氢氟酸 3 mL 后于石墨烯赶酸仪中 120 $^{\circ}\text{C}$ 预消解 30 min，冷却至室温，加入过氧化氢 2 mL 后放入微波消解仪以最大功率 1 600 W 进行消解：8 min 升至 100 $^{\circ}\text{C}$ 后保持 5 min；再以 5 min 升至 150 $^{\circ}\text{C}$ 后保持 5 min；再以 2 min 升至 170 $^{\circ}\text{C}$ 后保持 10 min；最后以 2 min 升至 190 $^{\circ}\text{C}$ 后保持 30 min，冷却后取出，置于赶酸仪中 150 $^{\circ}\text{C}$ 下进行赶酸至近干，冷却后用屈臣氏蒸馏水溶解定容至 50 mL，过 0.22 μm 水系滤膜后备用；每个样品做 2 个重复，每次消解土壤样品的同时设置空白对照（除不加土壤外其他操作均同样品消解液制备）。

1.3.3 土壤矿物元素标准品溶液的制备

精密吸取多元素标准溶液 50 μL ，用 5%硝酸溶液定容至 500 mL，即得 100 $\mu\text{g}/\text{L}$ 矿物元素混标母液。

1.3.4 方法学考察

线性关系考察：精密吸取“1.3.3”元素母液适量，用 5%硝酸溶液稀释成不同浓度后按“1.3.1”项下 ICP-MS 条件进样，以对照品元素溶液浓度为横坐标，测定元素响应值为纵坐标，绘制标准曲线，各元素在各自范围内线性关系良好。测定 6 份空白样品溶液，以其响应值的 3 倍所对应的元素浓度作为检测限，以其响应值的 10 倍所对应的元素浓度作为定量限，结果见表 2。

表 2 微量元素含量测定线性考察结果

Table 2 Results of linear examination of trace element content determination

元素	线性回归方程	相关系数	线性范围	检测限	定量限
----	--------	------	------	-----	-----

Element	Equation of linear regression	Correlation coefficient (<i>r</i>)	Linearity range ($\mu\text{g/L}$)	Limit of Detection ($\mu\text{g/L}$)	Limit of Quantitation ($\mu\text{g/L}$)
B	$Y=1.276\times 10^4 X+5.116\times 10^4$	0.999 7	0.1~100	0.003	0.011
V	$Y=9.672\times 10^4 X+1.34\times 10^4$	0.999 9	0.1~100	0.008	0.025
Cr	$Y=8.881\times 10^4 X+5.090\times 10^4$	0.999 9	0.1~100	0.010	0.031
Co	$Y=1.113\times 10^5 X+4.995\times 10^4$	0.999 8	0.1~100	0.013	0.042
Ni	$Y=1.824\times 10^4 X+1.133\times 10^4$	1.000 0	0.1~50	0.006	0.019
Cu	$Y=4.192\times 10^4 X+3.566\times 10^4$	1.000 0	0.1~100	0.008	0.025
As	$Y=1.042\times 10^4 X+1.796\times 10^4$	0.999 8	0.1~100	0.006	0.018
Mo	$Y=2.462\times 10^4 X+8.452\times 10^2$	1.000 0	0.1~100	0.011	0.034
Cd	$Y=2.462\times 10^4 X+8.452\times 10^2$	1.000 0	0.1~100	0.008	0.026
Sn	$Y=5.047\times 10^4 X-2.293\times 10^3$	1.000 0	0.1~100	0.001	0.005
Sr	$Y=2.048\times 10^5 X+1.328\times 10^5$	0.999 9	0.1~100	0.011	0.034
Pb	$Y=1.207\times 10^5 X+2.014\times 10^5$	0.999 7	0.1~100	0.009	0.028
Mg	$Y=4.286\times 10^4 X+9.246\times 10^5$	0.999 9	0.1~100	0.010	0.034
Al	$Y=5.929\times 10^4 X+6.752\times 10^6$	0.999 7	0.1~100	0.014	0.043
K	$Y=7.289\times 10^4 X+6.377\times 10^6$	0.999 5	0.1~100	0.003	0.010
Ti	$Y=5.537\times 10^4 X+2.453\times 10^5$	0.999 9	0.1~100	0.009	0.027
Zn	$Y=1.100\times 10^4 X+1.898\times 10^5$	0.999 8	0.1~100	0.015	0.049
Fe	$Y=2.504\times 10^3 X+1.384\times 10^5$	0.998 8	0.5~100	0.009	0.029
Mn	$Y=1.141\times 10^5 X+1.747\times 10^5$	0.999 9	0.1~100	0.010	0.031

精密度考察：取同一供试品溶液，按照“1.3.1”项 ICP-MS 条件下测定 6 次，所测元素相应信号相对标准偏差（relative standard deviation, RSD）值均小于 5.0%，表明仪器精密度良好。

稳定性考察：取同一供试品溶液，分别于 0、2、4、8、12 h，按照“1.3.1”项 ICP-MS 条件下测定各元素，所得各元素相应信号 RSD 值均小于 5.0%，表明供试品溶液 12 h 内稳定。

重复性考察：取同一土壤样品 6 份，按照“1.3.2”项下处理样品后以“1.3.1”条件下测定各元素含量，所得各元素含量 RSD 值均小于 5.0%，表明该方法重复性良好。

加样回收率考察：取同一土壤样品 6 份，每份 0.1 g，精密称定质量，精密吸取一定量多元素标准溶液，按照“1.3.2”项下消解样品后，按“1.3.1”项下条件测定，计算回收率，各元素加样回收率在 91.4%~114.2%，RSD 在 0.3%~4.7%，表明该方法可以相对准确的测定土壤样品中各元素的含量。

1.3.5 样品测定

对仪器进行调谐，各指标达到要求后上机测定，按照“1.3.2”制备土壤消解液，稀释500倍后测定K、Fe、Mn、Mg、Al、Ti、Zn等元素含量，按照“1.3.2”制备土壤消解液，稀释10倍后测定B、V、Cr、Co、Ni、Cu、As、Mo、Cd、Sn、Pb、Sr等元素含量。

2 结果与分析

2.1 野生地黄产区土壤中19种矿物元素含量分布特征

计算并统计35批野生地黄产区土壤中K、Fe、Mn、Mg、Al、Ti、Zn、B、V、Cr、Co、Ni、Cu、As、Mo、Cd、Sn、Sr、Pb等共计19种矿物元素含量并绘制百分比柱状图（见图1A）。计算35批野生地黄产区土壤中19种矿质元素的平均含量并绘制箱线图（见图1B）。结果表明野生地黄产区土壤中19种元素的含量差别较大，19种元素按照含量由高到低排序依次为：K>Fe>Al>Ti>Mg>Mn>Zn>B>V>Cr>Sr>Ni>Pb>Cu>Co>As>Sn>Mo>Cd，野生地黄产区土壤中K、Fe、Al、Ti、Mg含量相对较高，其中K、Fe、Al平均含量高于10.0 g/kg。土壤K是植物的主要营养元素，按照《农业土壤养分分级标准》，有6批地黄土壤全K含量达到1级（>25 g/kg），3批土壤中全K含量达到2级（20~25 g/kg），5批地黄土壤中K达到3级（15~20 g/kg），10批地黄土壤K含量达到4级（10~15 g/kg），其余土壤全钾含量均为5级（5~10 g/kg）。Ti、Mg平均含量分别为3.66、1.52 g/kg，Mn和Zn的含量分布在0.10~1.00 g/kg之间，B、V、Cr、Sr、Ni、Pb、Cu的含量分布在0.02~0.07 g/kg之间，其余元素含量的平均值均小于0.01 g/kg。

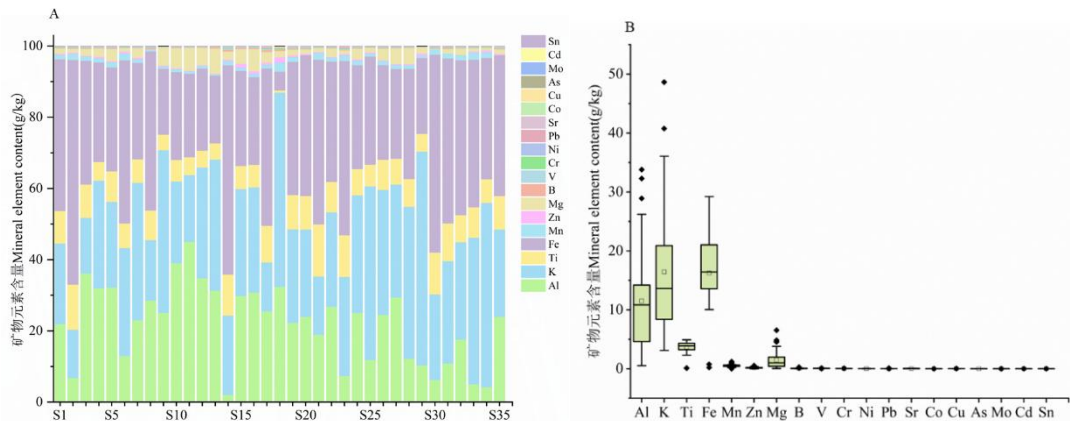


图1 野生地黄产区土壤中19种矿物元素含量柱状堆积图（A）和含量分布箱线图（B）

Fig. 1 Column accumulation map (A) and box diagram (B) of content distribution of 19 mineral elements in the soil of wild *R. glutinosa* production area

2.2 野生地黄产区土壤中矿物元素差异性分析

2.2.1 不同野生地黄产区土壤中矿物元素HCA和PCA

为了分析不同野生地黄产区土壤中矿物元素的分布特征，结合HCA和PCA对35批野生地黄产区土壤中矿物元素含量进行分析（见图2）。HCA结果可知，除S9和S32、S33

外，河南产地和其他产地野生地黄产区土壤样品可各自聚为一类。PCA 进一步表明编号为 S32 的野生地黄产区土壤矿物元素特征与其他地区差异较为明显，该样品落在 95%置信区间外，河南产地野生地黄产区土壤样品除 S32、S33 外，其余主要聚集在第一、二象限，样品间差异较小，除河南之外的其他产地野生地黄产区土壤样品主要分布在第三、四象限。PCA 模型解释率和预测力参数 (R^2X) 和 (Q^2) 分别为 0.869 和 0.783，均大于 0.5，说明模型的稳定性和预测能力良好。HCA、PCA 结果表明河南与其他产地野生地黄矿物元素特征存在差异。

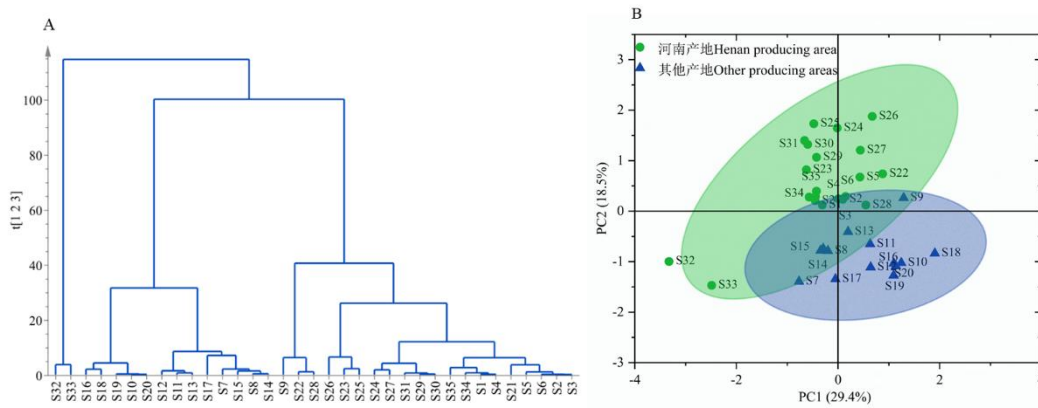


图 2 不同野生地黄产区土壤矿物元素 HCA (A) 和 PCA 得分 (B) 结果

Fig. 2 Results of HCA (A) and PCA score (B) of soil mineral elements of different wild *R. glutinosa* production areas

2.2.2 河南与其他产地野生地黄产区土壤矿物元素 OPLS-DA

为进一步筛选河南与其他产地野生地黄产区土壤差异性矿物元素，剔除置信区间外的 S32 样本，对两类产地土壤中的矿物元素含量进行 OPLS-DA，如图 3A 所示，两类产地野生地黄产区土壤样品在得分散点图的纵轴上实现了产地区分，自变量拟合指数 (R^2X) 为 0.558，因变量拟合指数 (R^2Y) 为 0.912，模型预测指数 (Q^2) 为 0.852。其中，河南产地基本分布在横轴的负半轴，而其他产地的分布在横轴的正半轴，说明两类产地野生地黄产区土壤样品中的矿物元素存在一定的区别。对模型进行 200 次置换检验，如图 3B 所示，模型回归线在 Y 轴的截距 < 0.5 ， Q^2 回归线与纵轴的相交点为负数，说明模型未出现过拟合。以变量重要性投影 (variable importance in projection, VIP) 值为筛选指标 (VIP 值 ≥ 1 表明该变量对整体模型的贡献度高于平均水平)，结果如图 3C，发现 Sr、K、Cr、Mn、Fe、Ti、Al、B、As 可能是造成河南与其他产地野生地黄产区土壤样品差异的潜在性元素。

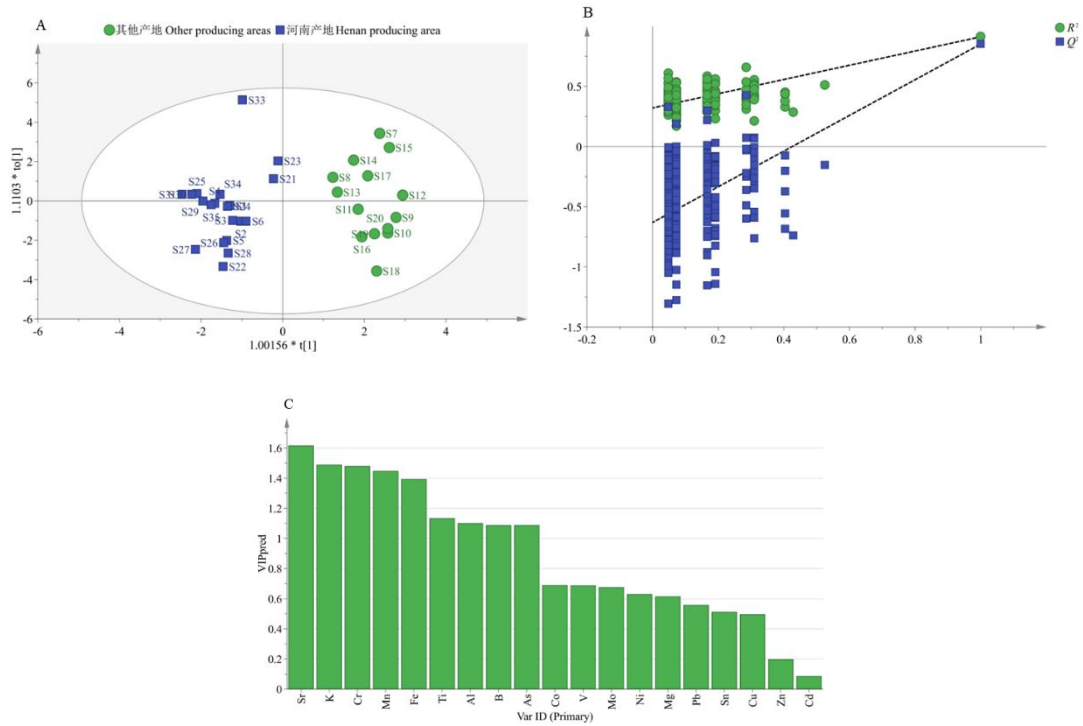


图 3 河南与其他产地野生地黄产区土壤矿物元素 OPLS-DA (A)、置换检验结果 (B) 和 VIP 值 (C)

Fig. 3 OPLS-DA (A), replacement test results (B) and VIP value (C) of soil mineral element contents of wild *R. glutinosa* production area in Henan and other production areas

2.2.3 河南与其他产地野生地黄产区土壤中矿物元素含量差异分析

为了进一步分析河南与其他产地野生地黄产区土壤中 K、Mg、Al、Fe 等 19 种矿物元素的含量差异，剔除 95% 置信区间外的 S32 样本，对两类产地的 19 种矿物元素含量进行正态性检验，检验结果显著性小于 0.10，不服从正态分布，数据以中位数（第 25，75 百分位数） $M(P_{25}, P_{75})$ 表示，因此采用曼-惠特尼 U 检验（Mann-Whitney U test）比较两个产地中位数是否存在显著差异，见表 3，并绘制 8 种存在显著差异的矿质元素箱式图见图 4。结果表明，两个产地野生地黄产区土壤中常量元素含量均为 $K > Mg$ ，但在微量元素的含量高低分布特征上存在差异，其中河南产地微量元素含量由高到低依次为 $Fe > Al > Ti > Mn > Zn > V > B > Sr > Cr > Ni > Pb > Cu > As > Co > Sn > Mo > Cd$ ，其他产地微量元素的含量由高到低依次为 $Fe > Al > Ti > Mn > Zn > V > B > Cr > Ni > Cu > Pb > Co > Sr > As > Sn > Mo > Cd$ 。差异性检验结果表明，两个产地野生地黄产区土壤中 Al、Ti、Mn、B、As、Mo、Cd、Sn 元素的含量存在显著差异 ($P < 0.05$)，提示这些元素可能是区分两个产地野生地黄产区土壤的重要元素。

表 3 河南与其他产地野生地黄产区土壤矿物元素含量的差异性分析

Table 3 Differential analysis of soil mineral element contents of soil mineral element contents of wild *R. glutinosa* production area in Henan and other production areas

元素 Element	含量 Content (mg/kg)	
	河南产地	其他产地
	Henan production area	Other production areas
K	12 470.0 (7 647.5, 18 355.0)	17 185 (10 195, 23 985)
Mg	920.0 (512.5, 3 577.5)	1 030.0 (402.5, 1 482.5)
Al	14 010.0 (7 245.0, 20 717.5) *	7 190.0 (2 725.0, 11 362.5)
Ti	3 810 (2 925, 4 160) *	4 025.0 (3 810.0, 4 537.5)
Fe	15 560 (12 345, 19 370)	16 665.0 (14 982.5, 21 992.5)
Mn	480 (370, 600) *	575.0 (507.5, 727.5)
Zn	150.0 (122.5, 257.5)	150.0 (67.5, 217.5)
B	63.39 (54.72, 101.21) **	50.76 (42.30, 53.94)
V	64.51 (59.87, 71.30)	68.70 (62.65, 77.85)
Cr	37.925 (34.237, 41.055)	42.360 (35.887, 46.817)
Ni	24.805 (23.220, 28.307)	26.495 (22.867 5, 30.962 5)
Pb	22.88 (20.21, 25.79)	21.47 (17.95, 26.13)
Sr	40.085 (14.305, 54.760)	7.495 (4.605, 36.632)
Co	8.185 (7.560, 9.357)	8.170 (7.107,10.605)
Cu	20.545 (18.730, 21.997)	22.025 (18.61 0, 24.462)
As	10.86 (8.64, 12.25) **	6.65 (5.40, 8.91)
Mo	0.915 (0.790, 1.267) *	0.765 (0.677, 0.820)
Cd	0.425 (0.322, 0.517) *	0.295 (0.260, 0.392)
Sn	3.415 (3.155, 4.230) *	2.83 (2.38, 3.33)

注：与其他产地比较，* $P < 0.05$ ，** $P < 0.01$

Note: Compared with other production areas, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$

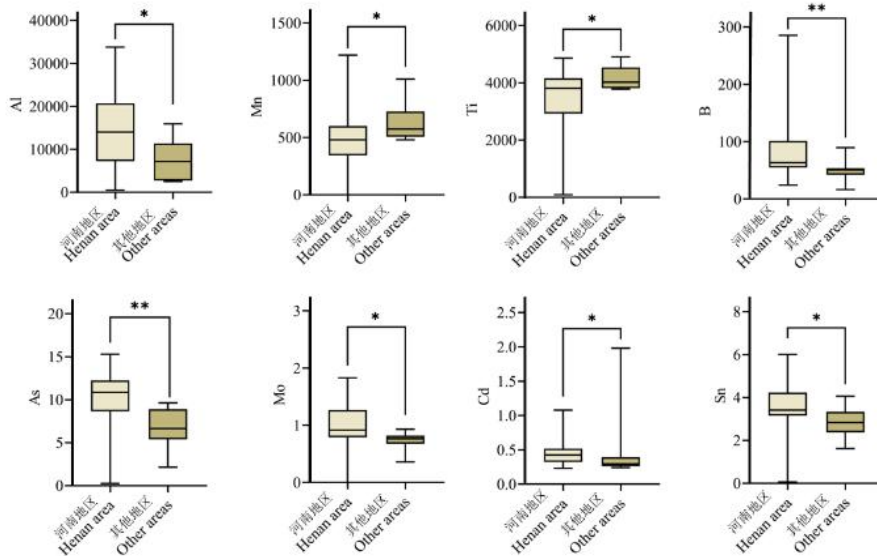


图 4 8 种矿质元素 Mann-Whitney U 检验箱式图

Fig. 4 Mann-Whitney U test box diagram for eight mineral elements

注：* $P < 0.05$ ，** $P < 0.01$ 。

Note: * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$.

2.3 不同海拔高度野生地黄产区土壤矿物元素差异分析

不同海拔高度下水分、光照强度、温度变化有差异，从而影响到野生地黄周围的植被和土壤皮层，可能会造成土壤中矿物元素的差异。进一步分析不同海拔高度下野生地黄产区土壤中矿物元素的分布特征，去除 S32、S33 偏离置信区间外的样本，以矿物元素含量为指标对 33 批野生地黄产区土壤进行 HCA 和 PCA（见图 5）。PCA 模型解释率和预测力参数（ R^2X ）和（ Q^2 ）分别为 0.629 和 0.563，均大于 0.5，说明模型的稳定性和预测能力良好。由 PCA 和 HCA 结果可知，海拔高度 > 500 m 的野生地黄产区土壤矿物元素特征基本相似，但表现出一定的地域性，其中河南产地海拔 > 500 m 的野生地黄产区土壤样本 S22、S27、S28 聚为一类，而其他产地海拔 > 500 m 的野生地黄产区土壤样本则聚为一类。

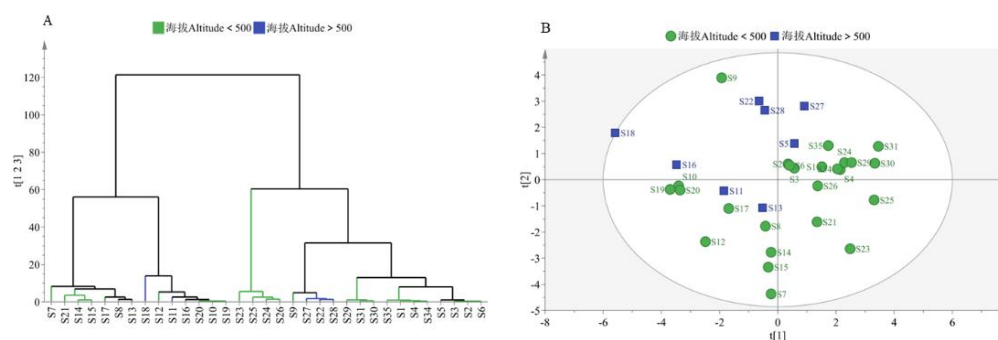


图 5 不同海拔高度野生地黄产区土壤矿物元素 HCA (A) 和 PCA (B) 结果图

Fig. 5 Results of HCA (A) and PCA (B) in soil mineral elements of wild *R. glutinosa* production area from different altitudes

对不同海拔高度野生地黄产区土壤样品矿物元素含量进行 OPLS-DA，如图 6 所示，OPLS-DA 模型自变量拟合指数（ R^2X ）为 0.592，因变量拟合指数（ R^2Y ）为 0.74，预测指数（ Q^2 ）为 0.542。对模型进行 200 次置换检验，如图 6B 所示，模型回归线在 Y 轴的截距 < 0.5 ， Q^2 回归线与纵轴的相交点 < 0 ，说明模型未出现过拟合。分析表明，海拔高度 < 500 m 的土壤样品基本分布在横轴的负半轴，海拔高度 > 500 m 的土壤样品分布在横轴的正半轴，但样品较为分散。说明当野生地黄分布的海拔高度 > 500 m 可能对土壤中的矿物元素含量影响较大。

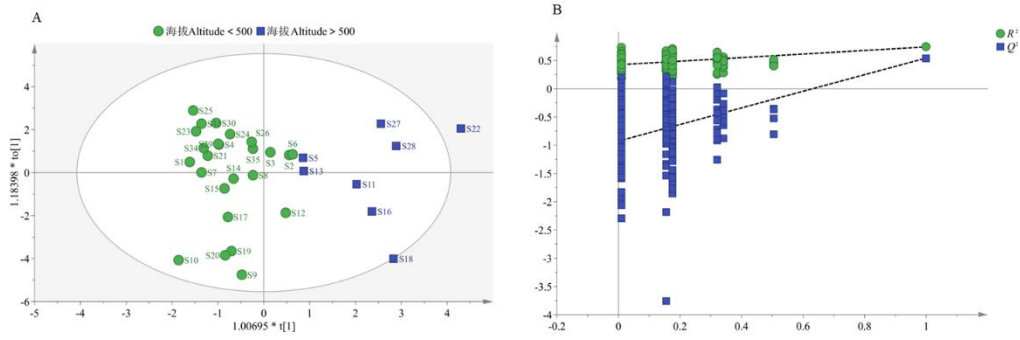


图 6 不同海拔高度野生地黄产区土壤矿物元素 OPLS-DA (A) 和置换检验图 (B)

Fig. 6 OPLS-DA (A) and displacement test (B) diagrams of soil mineral elements of wild *R. glutinosa* production area from different altitudes

2.4 野生地黄产区土壤中矿物元素含量相关性分析

为了进一步观察野生地黄产区土壤中矿物元素含量之间的关联性，利用统计学软件对 19 种矿物元素的含量进行相关性分析（见图 7），红色表示正相关，蓝色表示负相关，相关系数绝对值越大，椭圆越扁。结果表明，元素 Mg 含量与 K、Al、Sr 元素，K 含量与 Al、Fe、Mn、Zn、V 元素，Ti 含量与 Fe、Mn 元素，V 含量与 Cr、Ni、Co 元素呈显著正相关；Sr 含量与 Cr、V 元素呈显著负相关。说明野生地黄分布区域土壤中的某些矿物元素含量之间可能存在一定的相关性。

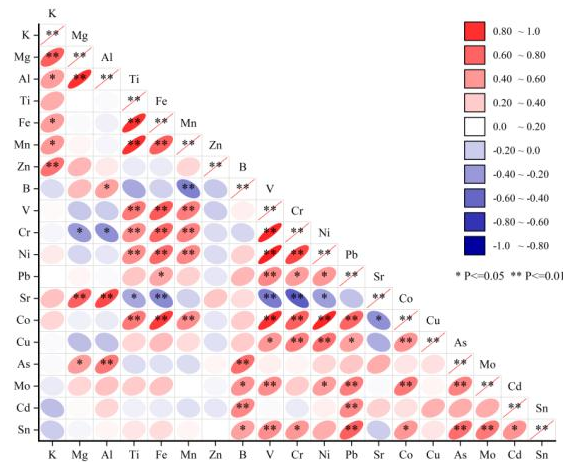


图 7 19 种矿物元素相关性热图

Fig. 7 Correlation heat map of 19 mineral elements

3 讨论与结论

中药材的活性成分不仅限于化学成分，还包括矿物元素，矿物元素是土壤生态系统的重要组成部分，在植物的生长过程中发挥着不可或缺的作用。地黄包括野生和栽培两种类型，栽培品主要来源于野生地黄的人工引种驯化^[16]。野生地黄资源丰富，分布广泛，适应性强，耐寒冷，耐干旱^[17]，由于受人为因素干扰较小，测定其自然分布区域土壤中的矿物

元素可以反映地黄对不同矿物元素的需求规律。本研究对不同产地 35 批野生地黄分布土壤中的矿物元素进行分析,发现野生地黄产区土壤中 K、Mg、Fe、Mn、Ti 等矿物元素的含量较为丰富。研究报道,K 元素可以加速光合产物的积累,有利于光合产物在块根中的积累,促进植物块根的形成和生长膨大^[18];Mg 元素参与植物体内叶绿素的合成及光合作用等反应,在增加产量和收入以及预防疾病方面发挥作用^[19];Fe 对呼吸作用和叶绿素合成有重要作用^[20];Mn 是多种酶的成分和活化剂,能促进碳水化合物的代谢和氮的代谢,与作物生长发育和产量有密切关系^[21]。因此,地黄生长及质量特征的形成可能与其对 K、Mg、Fe、Mn、Ti 等矿物元素的较多需求有关。

土壤中矿物元素含量与中药材有效成分的积累密切相关,这些元素通过根系进入药材,参与其生理代谢活动,从而对中药材的质量产生重要影响,道地药材优质性形成的部分原因可能与此有关^[22,23]。Shi 等^[24]研究发现土壤中 Fe、Al、Se、Ba 元素对滇重楼有效成分重楼皂苷有促进作用;Wei 等^[25]研究报道指出土壤中 Ca、Mg、Zn 和 Fe 元素影响着生长期红芪有效成分的积累;Wang 等^[26]以栽培地黄为研究对象,发现地黄药材与土壤中矿物元素含量密切相关,地黄对 K、Zn 元素有较强的富集作用;Wang 等^[27]研究发现河南焦作产地鲜地黄中 Na、K、AL、Mg、Fe 元素的含量均较高;本研究发现野生地黄生长土壤中也富含 K、AL、Mg 等元素,因此,药材对土壤中的矿物元素存在选择性富集现象,土壤中矿物元素含量不仅影响中药材的生长及质量形成,还可以反映药材对矿物元素的需求特点,本研究结果为地黄种植区域的选择及田间施肥管理提供参考依据。

矿物元素是土壤重要的组成部分,也是植被、海拔、温度、水分、地质构造等生态因子长期相互作用的结果,因此每种植物都有适合其生长的特定生态环境。中药材讲究道地性,而生态因子是道地性形成的外部环境,近年来,许多学者从生态因子的角度对中药材开展相关研究。Cai 等^[28]报道指出单叶蔓荆植物分布主要受海拔、降水量、气温的影响,推测可能是单叶蔓荆道地性形成的影响因素;Lu 等^[29]研究表明海拔、温度变化、土壤类型和植被类型为影响宁夏枸杞生态适宜区分布的主要生态因子。本研究对 35 个产地野生地黄产区土壤中 19 种矿物元素进行差异性分析,发现河南产地与其他产地野生地黄产区土壤矿物元素含量特征存在一定差异,而且同一地区不同海拔高度采集的野生地黄产区土壤中矿物元素的含量存在差异,海拔高度大于 500 m 的野生地黄产区土壤中矿物元素差异较大,提示海拔高度可能影响野生地黄产区土壤中矿物元素的含量。野生地黄产区土壤中矿物元素含量受多种生态因子的影响,而且土壤中的矿物元素与野生地黄的质量及矿物元素含量

是否具有相关性也未见报道，因此，多生态因子影响下的野生地黄植株及土壤中矿物元素特征及其与地黄质量的相关性还有待于进一步研究。

参考文献

- 1 Chinese Pharmacopoeia Commission. Pharmacopoeia of the People's Republic of China: Vol I (中华人民共和国药典: 第一部)[M]. Beijing: China Medical Science Press, 2020: 129-130.
- 2 Qi YT, Zhang M, Liu JX, et al. Modern research progress and Q-marker prediction analysis of traditional Chinese medicine *Rehmannia glutinosa*[J]. Chin Arch Tradit Chin Med (中华中医药学刊), 2023, 41: 176-184.
- 3 Chen JP, Zhang KX, Liu Y, et al. Research progress on chemical constituents and pharmacological effects of *Rehmannia glutinosa*[J]. Chin Tradit Herb Drugs (中草药), 2021, 52: 1772-1784.
- 4 Cui W, Zheng XM, Li HX, et al. Study on chemical constituents of fresh *Rehmannia glutinosa*[J]. J Chin Med Mater (中药材), 2022, 45(10): 2369-2375.
- 5 Geng XT, Wang FQ, Xie CX, et al. Study on the relationship between antioxidant activity of *Rehmannia* root and spectral effect based on HPLC fingerprint technology[J]. Nat Prod Res Dev (天然产物研究与开发), 2019, 31: 1864-1872.
- 6 Zhu Y, Zhu XM, Shi YM, et al. Research progress of *Rehmannia glutinosa* and prediction and analysis of its quality markers[J]. J Chin Med Mater (中药材), 2022, 45: 1273-1281.
- 7 Liu Y, Li M, Chen XP, et al. The correlation study between 18 inorganic elements in Maodongqing based on heat map and cluster analysis[J]. Nat Prod Res Dev (天然产物研究与开发), 2020, 32: 1111-1117.
- 8 Dai YY, Yan BB, Yang J, et al. Correlations between tanshinones and soil factors of *Salviae Miltiorrhizae Radix et Rhizoma* from different producing areas[J]. Chin J Chin Mater Med (中国中药杂志), 2024, 49: 1793-1801.
- 9 Yang HL, Zhong WT, Guo YS, et al. Analysis of inorganic elements in different batches of earthworm polypeptides by ICP-MS combined with chemometrics technology[J]. Acta Pharm Sin (药学学报), 2024, 59: 1040-1047.
- 10 Xu QY, Huang ZB, Yao SM, et al. Comparative study on quantitative methods of medicinal properties of some traditional Chinese medicines based on chemical elements[J]. Chin Tradit Herb Drugs (中草药), 2024, 55: 5964-5971.
- 11 Zhao YY, Chen LM, Guo HZ, et al. Research and evaluation of inorganic elements in traditional Chinese medicine based on ICP-MS[J]. Chin J New Drugs (中国新药杂志), 2019, 28: 54-59.
- 12 Xiong DH, Li GF, Yang TY, et al. Principal component analysis, correlation and cluster analysis of 18 mineral elements in Fanjing Mountains Tea[J]. Nat Prod Res Dev (天然产物研究与开发), 2017, 29: 1888-1894.
- 13 Wang SJ, Zheng QQ, Lu S, et al. Determination of seven metal elements in soil samples by inductively coupled plasma mass spectrometry with microwave digestion[J]. Chin J Inorg Anal Chem (中国无机分析化学), 2023, 13: 1336-1341.
- 14 Yu NJ, Yu J, Zhang W, et al. Determination of trace elements in different parts of *Chrysanthemum morifolium* and its soil by ICP-MS[J]. J Chin Med Mater (中药材), 2014, 37: 2136-2139.
- 15 Li L, Chang X, Cui HF, et al. Comparative analysis of inorganic elements in different official parts of *Aster tataricus* by ICP-MS with statistical analysis[J]. J Chin Med Mater (中药材), 2023, 46(06): 1447-1453.

- 16 Xia Z,Huang Y,Li HM,et al.Origin of cultivated *Rehmannia glutinosa* based on chloroplast gene *psbA-trnH*,*trnS-trnG*,and nuclear ITS sequences[J].Chin Tradit Herb Drugs(中草药),2018,49:423-430.
- 17 Zuo M,Zuo JJ.Domesticated cultivation and application of wild *Rehmannia glutinosa*[J].Agriculture and Technology(农业与技术),2019,39(20):93-94.
- 18 Haro R,Benito B.The role of soil fungi in K⁺ plant nutrition[J].Int J Mol Sci,2019,20:3169-3184.
- 19 Yu X,Liu X.Effects of magnesium on plants and application of magnesium fertilizer in agriculture and forestry[J].South Chin Agric(南方农业),2023,17:152-155.
- 20 Shirani Bidabadi,S.The role of Fe-nano particles in scarlet sage responses to heavy metals stress[J].Int J Phytoremed,2020,22:1259-1268.
- 21 Xu,XC,Miao JY,Hou CH.Plant nutrition and human health[J].Fert Health(肥料与健康),2022,49:21-24.
- 22 Liu Y,Zhao SX,Wei ZC,et al.Analysis on characteristics of inorganic elements in *Corydalis yanhusuo* and its rhizosphere soil[J].Chin J Inf Tradit Chin Med(中国中医药信息杂志),2021,28:94-101.
- 23 Zhong XJ,Tan YF.Research progress of soil factor influences on the quality of genuine medicinal materials[J].J South Agric(南方农业学报),2012,43:1708-1711.
- 24 Shi ZF,Pan FM,Gu WC,et al.Correlation between the chemical forms of soil inorganic elements and the main active components of *Paris polyphylla* var. *yunnanensis*[J].Nat Prod Res Dev(天然产物研究与开发),2023,35:1380-1392.
- 25 Wei XC,Li CY,Zhou RJ,et al.Study on the active constituents of Hedysari Radix and the accumulation characteristics of inorganic elements in rhizosphere soil[J].Chin J Tradit Chin Med Pha(中华中医药杂志),2024,39:724-731.
- 26 Wang FN,Chen SQ.Correlation analysis of *Rehmannia* and multielement in Soil[J].Chin J Chin Med(中医学报),2015,30:849-852.
- 27 Wang S,Xu HY,Peng XJ,et al.Establishment of an ICP-MS for determination of 26 metal elements in fresh *Rehmannia glutinosa* and comparison of element content between different processing methods[J].Mod Chin Med(中国现代中药),2023,25:99-106.
- 28 Cai MT,Yuan JJ,Yuan JS,et al.Authentic environmental factors analysis of *Vitex rotundifolia* based on MaxEnt model[J].J Chin Med Mater(中药材),2022,45:2081-2086.
- 29 Lu YY,Guo S,Yan H,et al.Regionalization of production of medicinal and edible fruit of *Lycium barbarum* associated with ecological factors and chemical constituents[J].Acta Pharm Sin(药学学报),2020,55:2466-2477.

收稿日期: 接受日期:

基金项目: 国家自然科学基金(82073952, 82373985)

*通信作者 Tel: 13592653193; E-mail: zj19820305@163.com, nanyang.ccx@163.com