

· 药学基础 ·

无机元素特征谱结合化学计量学鉴别黄芩的生长年限

李化¹, 黄国英^{1,2}, 张明晓¹, 杨立新¹, 董红敬³, 杨滨^{1*}

(1. 中国中医科学院中药研究所, 北京 100700;
2. 成都大学附属医院, 成都 610081; 3. 山东省分析测试中心, 济南 250014)

[摘要] 目的: 确定1~4年生黄芩中无机元素的含量特征, 结合化学计量学模型, 探讨基于无机元素特征图谱进行黄芩生长年限鉴别的可行性。方法: 样品经微波消解后, 采用电感耦合等离子体原子发射光谱法(ICP-OES)和电感耦合等离子体质谱法(ICP-MS)测定21批样品中Mn、Zn、Ca、Fe、Mg、Na、K、Cr、Cu、Se、As、Cd、Hg、Pb和Ni共15种无机元素的含量, 绘制黄芩无机元素特征图谱, 结合主成分分析(PCA)、Fisher判别函数和支持向量机对测试结果进行系统分析, 建立黄芩生长年限的鉴别模型。结果: ICP-OES和ICP-MS结果显示, 黄芩中富含元素Mn(7.79~36.48 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)、Zn(10.12~31.43 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)、Cu(6.38~17.20 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)、K(2.98~13.89 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)、Mg(3.45~7.78 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)和Ca(2.32~7.09 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$), 其含量整体随生长年限的延长而呈增加趋势。PCA结果表明Cu、Ni、Cd、Na、Mg、Fe、Ca、Zn、Mn、Hg是黄芩的特征元素; Fisher判别分析的空间特征图显示, 1~4年生黄芩的生长年限可区分为4个类别; 建立的支持向量机模型对黄芩年限的总正确率达95.2%。结论: 建立的黄芩年限鉴别方法准确、快速, 可为其他中药材生长年限的鉴别提供参考。建议后续构建黄芩的质量评价体系时, 应考虑将部分无机元素列为评价指标。

[关键词] 黄芩; 电感耦合等离子体原子发射光谱法(ICP-OES); 电感耦合等离子体质谱法(ICP-MS); 无机元素; 特征图谱; 化学计量学; 生长年限

[中图分类号] R22; R28; R931; O657 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2022)21-0121-08

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.20220350 **[增强出版附件]** 内容详见<http://www.syfjxzz.com>或<http://cnki.net>

[网络出版地址] <https://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20220222.1431.004.html>

[网络出版日期] 2022-02-23 9:31

Identification of Growth Years of Scutellariae Radix By Characteristic Spectrum of Inorganic Elements Combined with Chemometrics

LI Hua¹, HUANG Guoying^{1,2}, ZHANG Mingxiao¹, YANG Lixin¹, DONG Hongjing³, YANG Bin^{1*}

(1. Institute of Chinese Materia Medica, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100700, China;

2. Affiliated Hospital of Chengdu University, Chengdu 610081, China;

3. Shandong Analysis and Test Center, Jinan 250014, China)

[Abstract] **Objective:** To obtain content characteristics of inorganic elements in Scutellariae Radix (aged 1-4 years), and to explore the feasibility of identifying the growth years of Scutellariae Radix based on characteristic spectrum of inorganic elements combined with chemometric models. **Method:** After microwave digestion, the contents of Mn, Zn, Ca, Fe, Mg, Na, K, Cr, Cu, Se, As, Cd, Hg, Pb and Ni in 21 batches of Scutellariae Radix were determined by inductively coupled plasma atomic emission spectrometry (ICP-OES) and inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS). Meanwhile, characteristic spectrum of inorganic

[收稿日期] 2021-12-18

[基金项目] 中国中医科学院科技创新工程项目(CI2021A04511); 国家自然科学基金项目(81202903, 81573534); 山东省重点研发计划项目(2021CXGC010508)

[第一作者] 李化, 博士, 副研究员, 从事中药及其复方的质量评价及其药效物质基础研究, E-mail: lihua621@hotmail.com

[通信作者] * 杨滨, 博士, 研究员, 从事中药质量评价及其药效物质基础研究, E-mail: ybinmm@126.com

elements in samples was drawn. The identification model was constructed to discriminate the growth years of *Scutellariae Radix* based on the combination of principal component analysis (PCA), Fisher discriminant function and support vector machine (SVM). **Result:** The contents of Mn ($7.79\text{-}36.48\ \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$), Zn ($10.12\text{-}31.43\ \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$), Cu ($6.38\text{-}17.20\ \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$), K ($2.98\text{-}13.89\ \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$), Mg ($3.45\text{-}7.78\ \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$) and Ca ($2.32\text{-}7.09\ \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$) in *Scutellariae Radix* were detected by ICP-OES and ICP-MS, and their contents increased with the prolongation of growth years. PCA results showed that Cu, Ni, Cd, Na, Mg, Fe, Ca, Zn, Mn and Hg were characteristic elements of *Scutellariae Radix*. Samples with different years could be divided into four categories in the spatial characteristic diagram of Fisher discriminant analysis. The correct rate of SVM model for identifying the growth years of samples was 95.2%. **Conclusion:** This established method is accurate and rapid for discriminating the growth years of *Scutellariae Radix*, which can provide reference for the identification of other Chinese medicinal materials. It is suggested that some elements should be considered as indexes in subsequent construction of the quality evaluation system of *Scutellariae Radix*.

[Keywords] *Scutellariae Radix*; inductively coupled plasma atomic emission spectrometry (ICP-OES); inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS); inorganic elements; characteristic spectrum; chemometrics; growth years

黄芩是临床组方用药中常用中药材,用药历史悠久,始载于《神农本草经》,列为中品。2020年版《中华人民共和国药典》记载其为唇形科植物黄芩 *Scutellaria baicalensis* 的干燥根,春、秋二季采挖,具有清热燥湿、泻火解毒、止血、安胎的功效^[1]。随着黄芩作为原料药在中成药或临床处方中的大量使用,野生黄芩采挖严重,资源匮乏,已不能满足市场需求。经市场调查发现,市售黄芩药材或饮片主要来源于1年生、2年生或3年生的栽培品,极少见野生黄芩,黄芩栽培品代替野生品将成为必然趋势。

生长年限是引起栽培黄芩化学差异性的主要因素之一。以往研究普遍选择有机成分(如黄芩苷、黄芩素、汉黄芩苷、汉黄芩素等)作为评价指标,从有机成分和显微特征等方面去探究其与黄芩生长年限的关联性^[2-6]。3年生黄芩中黄芩苷、黄芩素、汉黄芩苷、汉黄芩素等黄酮类成分含量略高于1年生黄芩和2年生黄芩^[3];黄芩木质部中黄芩苷、汉黄芩苷、黄芩素、汉黄芩素等活性成分总量随着生长年限的增加逐年增加,皮层中活性成分总量的增加趋势与木质部基本一致^[5]。魏莹莹等^[5]和杨冬野等^[6]又根据不同生长年限黄芩根横断面微观结构特征的差异性,建立了黄芩年限鉴别方法。但无机元素与黄芩生长年限的相关性研究却鲜见报道。

无机元素普遍存在于药用植物体内,不仅参与自身的各种生命代谢活动,还是中药疗效发挥和毒性产生的重要物质基础。大量研究结果表明无机元素与中药功效^[7-9]、中药药性^[7,10-11]密切相关,产地^[12-13]、生长时期^[14-15]和生长年限^[16-17]等都会影响药

材中无机元素的分布与积累。本课题组前期研究也发现无机元素与黄芩功效密切相关,低钙(Ca)高镁(Mg)、高铁(Fe)低锰(Mn)和低铜(Cu)高锌(Zn)的含量比值特征是黄芩降压、抗肿瘤功效的重要物质基础^[9];还揭示了Ca、Mg、磷(P)、钾(K)这4种营养元素在不同物候期黄芩根、茎、叶、花、果实中的配置规律^[14],以及其对黄芩植株生长发育过程的影响机制。

电感耦合等离子体质谱法(ICP-MS)^[17-19]和电感耦合等离子体原子发射光谱法(ICP-OES)^[9,14]以其快速、准确、灵敏的技术优势,推动了多元素同步分析在中药质量研究中的应用。因此,本研究拟采用ICP-OES和ICP-MS技术开展黄芩中15种无机元素的含量研究,绘制不同生长年限黄芩的无机元素特征谱,结合主成分分析(PCA)、Fisher判别函数和支持向量机(SVM)等多元统计分析方法分析不同年限黄芩中无机元素的变化规律,建立黄芩年限的鉴别模型,以期中药材年限鉴别研究增加新的切入点,提供新的研究方法。

1 材料

iCAP 6000型电感耦合等离子体-原子发射光谱仪(美国Thermo公司),7700x型电感耦合等离子体质谱仪(美国Agilent公司),CP225D型1/10万电子天平(德国Sartorius公司),UltraWAVE型微波消解系统(意大利Milestone公司),FW80型高速万能粉碎机(天津市泰斯特仪器有限公司),Milli-Q型超纯水仪(美国密理博公司)。

标准参考物质黄芪(国家标准物质中心,批号

GBW10028); Ca(批号 GSB04-1735-2004)、Mg(批号 GSB04-1735-2004)、Cu(批号 GSB04-1725-2004)、Zn(批号 GSB04-1761-2004)、Fe(批号 GSB04-1726-2004)、Mn(批号 GSB04-1736-2004)、K(批号 GSB04-1733-2004)、钠(Na,批号 GSB04-1738-2004)、硒(Se,批号 GSB04-1751-2004)和镍(Ni,批号 GSB04-1740-2004)标准溶液购自国家有色金属及电子材料分析测试中心和国家标准物质中心,砷[As,批号 GBW(E)082113]、镉[Cd,批号 GBW(E)082122]、汞[Hg,批号 GBW(E)082134]、铬[Cr,批号 GBW(E)082100]和铅[Pb,批号 GBW(E)082136]标准溶液购自中国计量科学研究院,各元素标准溶液的质量浓度均为 $1 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$;铈(Rh,批号 GSB04-2826-2011,质量浓度 $1 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$)内标储备液购自国家有色金属及电子材料分析测试中心;硝酸(HNO_3 ,优级纯)和双氧水(H_2O_2 ,优级纯)均购自苏州品瑞化学有限公司;超纯水(电阻率 $18.2 \text{ M}\Omega$)为实验室自制。所用器皿使用前均用 $10\% \text{ HNO}_3$ 浸泡过夜,再用超纯水冲洗多次至无酸味,晾干备用。

实地收集1~4年生栽培黄芩21批,生长年限由药材种植基地负责人或药农提供,均经中国中医科学院中药研究所杨滨研究员鉴定为唇形科植物黄

芩 *S. baicalensis* 的干燥根,见图1,样品信息见表1。由图1可知,黄芩随生长年限增长,根直径呈逐渐增粗的趋势且分支增多。每批样品随机取5株黄芩的根,自然干燥、粉碎过五号筛,混匀后用于后续的ICP-OES和ICP-MS分析。

2 方法与结果

2.1 ICP-OES工作参数 参考文献[20]的方法并略微调整工作参数。等离子体射频功率 1.15 kW ,辅助气流量 $0.5 \text{ L} \cdot \text{min}^{-1}$,载气压力 0.2 MPa ,垂直观测高度 12 mm ,清洗时间 30 s ,泵速 $50 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$,积分时间 10 s 。待测元素Ca、Mg、Fe、Zn、Mn、K、Na的检测波长分别为 396.8 、 279.5 、 259.9 、 213.9 、 257.6 、 766.5 、 589.6 nm 。

2.2 ICP-MS工作参数 参考文献[20]的方法并略微调整工作参数。等离子体射频功率 1.05 kW ,雾化气流量 $1.0 \text{ L} \cdot \text{min}^{-1}$,辅助气流量 $0.80 \text{ L} \cdot \text{min}^{-1}$,等离子体气流量 $15.0 \text{ L} \cdot \text{min}^{-1}$,分析室真空压力 $1.18 \times 10^{-4} \text{ Pa}$,检测器脉冲电压 900 V ,停留时间 300 ms ,扫描方式为单点跳峰,重复数3次,循环数5次。测定元素为Cr、Cu、Se、As、Cd、Hg、Pb和Ni。

2.3 供试品溶液的制备 取粉末约 0.5 g ,精密称定,置于微波消解罐中,加入 HNO_3 3.0 mL 和 H_2O_2



图1 不同产地、不同年限的黄芩药材外观

Fig. 1 Appearance of *Scutellariae Radix* from different origins and different years

表1 不同年限黄芩的样品信息

Table 1 Sample information of *Scutellariae Radix* with different years

样品编号	生长年限/年	产地	纬度	经度
sxsl-1yr	1	陕西商洛	33°49'15.48"	110°02'05.56"
sxsl-2yr	2	陕西商洛	33°49'15.48"	110°02'05.56"
sxsl-3yr	3	陕西商洛	33°49'15.48"	110°02'05.56"
sxsl-4yr	4	陕西商洛	33°49'15.48"	110°02'05.56"
hnls-1yr	1	河南卢氏	34°03'05.02"	111°03'07.11"
hnls-2yr	2	河南卢氏	34°03'05.02"	111°03'07.11"
hnls-3yr	3	河南卢氏	34°03'05.02"	111°03'07.11"
hnls-4yr	4	河南卢氏	34°03'05.02"	111°03'07.11"
sxxf-1yr	1	山西襄汾	35°52'42.08"	111°26'20.03"
sxxf-2yr	2	山西襄汾	35°52'42.08"	111°26'20.03"
sxxf-3yr	3	山西襄汾	35°52'42.08"	111°26'20.03"
hbag-1yr	1	河北安国	38°25'16.00"	115°19'39.70"
hbag-2yr	2	河北安国	38°25'16.00"	115°19'39.70"
gsmx-2yr	2	甘肃岷县	34°26'00.92"	104°03'31.06"
sdlw-1yr	1	山东莱芜	36°12'48.16"	117°40'31.57"
sdlw-2yr	2	山东莱芜	36°12'48.16"	117°40'31.57"
sdlw-3yr	3	山东莱芜	36°12'48.16"	117°40'31.57"
nmgbw-2yr	2	内蒙古 呼和浩特	40°36'29.1"	109°58'31.7"
nxgy-2yr	2	宁夏固原	36°01'16.27"	106°18'21.72"
bjqy-1yr	1	北京延庆	40°31'08.4"	115°46'44.3"
bjqy-2yr	2	北京延庆	40°31'08.4"	115°46'44.3"

0.5 mL,在微波消解系统预消解 40 min。采用匀速升温方式,分3个阶段消化:在 1 300 W(100%)功率下,于 5 min 内升温至 160 °C;在 1 300 W(100%)功率下,于 5 min 内升温至 200 °C;在 1 300 W(100%)功率下,于 5~20 min 保持 200 °C 罐温。待消解罐冷却至室温,将消解液转移并定容至 15 mL,将定容后的消解液稀释至适宜倍数。同法制得空白样品溶液,待测。

2.4 数据处理 实验分析用到的分析软件有 SPSS 23.0、MATLAB R2017a。前者用于 PCA 和 Fisher 判别分析,后者用于 SVM 模型的建立。

2.5 标准曲线的制备和仪器检测限的确定 采用 ICP-OES 和 ICP-MS 测定 15 种无机元素的系列质量浓度标准溶液。ICP-OES 以各元素峰响应值为纵坐标,质量浓度为横坐标,制备标准曲线;在 ICP-MS 测定中,选择 Rh($10 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)为内标,以各元素峰响应值与内标元素参比峰响应值的比值为纵坐标,质量浓度为横坐标,制备标准曲线,见表 2。结果发现

各元素的相关系数(r)均 $>0.999 5$,说明该方法的线性关系均良好。按 2.1 和 2.2 项下条件测定不少于 10 份空白样品溶液,计算待测元素信号响应值的标准偏差的 3 倍所对应的质量浓度,得到上述 15 种无机元素的检出限,见表 2。

表2 黄芩中 15 种元素的回归方程和检测限

Table 2 Linear regressions and detection limits of 15 elements in *Scutellariae Radix*

元素	标准曲线	r	检出限	线性范围
Mn	$Y=17\ 458.0X-24.4$	1.000 0	$0.006 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$	$0.02\sim 2 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$
Zn	$Y=3\ 836.6X+2.4$	1.000 0	$0.005 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$	$0.02\sim 2 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$
Ca	$Y=4\ 624.2X+3.0$	1.000 0	$0.065 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$	$0.2\sim 20 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$
Fe	$Y=2\ 468.0X+31.8$	1.000 0	$0.020 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$	$0.05\sim 5 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$
Mg	$Y=86\ 258.0X+3\ 607.4$	0.999 7	$0.020 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$	$0.05\sim 5 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$
Na	$Y=2\ 232.5X-42.1$	1.000 0	$0.015 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$	$0.5\sim 40 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$
K	$Y=631.5X+1.0$	1.000 0	$0.015 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$	$0.5\sim 40 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$
^{52}Cr	$Y=0.214\ 1X+0.004\ 6$	1.000 0	$0.033 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$	$0.1\sim 10 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$
^{63}Cu	$Y=0.269\ 6X+0.047\ 5$	0.999 9	$0.300 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$	$1\sim 100 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$
^{78}Se	$Y=0.002\ 0X+0.000\ 7$	0.999 6	$0.040 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$	$0.1\sim 10 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$
^{75}As	$Y=0.028\ 5X+0.000\ 3$	0.999 9	$0.030 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$	$0.1\sim 10 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$
^{111}Cd	$Y=0.089\ 6X+0.000\ 2$	1.000 0	$0.040 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$	$0.1\sim 10 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$
^{202}Hg	$Y=0.080\ 1X+0.000\ 4$	0.999 8	$0.002 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$	$0.05\sim 0.5 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$
^{208}Pb	$Y=10.639\ 4X+0.738\ 6$	1.000 0	$0.001 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$	$0.1\sim 10 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$
^{60}Ni	$Y=0.150\ 7X+0.014\ 7$	1.000 0	$0.050 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$	$0.1\sim 10 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$

2.6 不同年限黄芩中无机元素的含量比较 分别称取 21 批黄芩样品粉末 0.5 g,精密称定,按 2.3 项下方法制备供试品溶液,采用 ICP-OES 和 ICP-MS 分别测定 15 种无机元素含量,见表 3。结果发现元素 Mn、Zn、Cu、K、Mg、Ca 在黄芩中含量较高,这与郭兰萍等^[21]、朱艳霞等^[22]的研究结果基本一致。参照 WM/T 2—2004《药用植物及制剂外经贸绿色行业标准》($\text{Pb}\leq 5 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ 、 $\text{Cd}\leq 0.3 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ 、 $\text{As}\leq 2 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ 、 $\text{Hg}\leq 0.2 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ 、 $\text{Cu}\leq 20 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)对 Pb、Cd、As、Hg 和 Cu 这 5 种重金属及有害元素残留的限量标准^[23],确定研究所用 21 批不同产地、不同年限的黄芩样品中上述 5 种元素含量均未超出限值。

2.7 不同年限黄芩无机元素特征图谱的建立 参考贾妙婷等^[15]的方法,将 15 种元素根据原子质量递增的顺序,绘制黄芩无机元素特征图谱,见图 2。结果显示,21 批不同年限黄芩中均能检测到这 15 种无机元素,其整体分布趋势为 $\text{Mn}>\text{Zn}>\text{Cu}>\text{K}>\text{Mg}>\text{Ca}>\text{Na}>\text{Cr}>\text{Ni}>\text{Pb}>\text{Fe}>\text{As}>\text{Se}>\text{Cd}>\text{Hg}$ 。21 批不同产地、不同年限黄芩的无机元素特征图谱均呈现相似的

表3 黄芩中15种元素的质量分数

元素	最大值	最小值	数值($\bar{x}\pm s, n=21$)
Mn	36.48	7.79	16.12±7.93
Zn	31.43	10.12	16.01±4.65
Ca	7.09	2.32	4.29±1.54
Fe	0.85	0.09	0.35±0.21
Mg	7.78	3.45	5.23±1.22
Na	15.15	0.35	3.20±3.26
K	13.89	2.98	8.33±2.46
⁵² Cr	4.43	0.80	2.11±1.13
⁶³ Cu	17.20	6.38	10.70±2.58
⁷⁸ Se	0.19	0.042	0.10±0.05
⁷⁵ As	0.37	0.06	0.17±0.09
¹¹¹ Cd	0.22	0.004	0.05±0.05
²⁰² Hg	0.007	0.001	0.003±0.002
²⁰⁸ Pb	0.78	0.09	0.36±0.17
⁶⁰ Ni	6.08	0.29	1.24±1.47

整体特征,但其明显不同于其他中药材的元素特征图谱,如红芪^[15]等。本研究发现在不同年限的黄芩中,含量高的无机元素主要有Cu、Ca、Mg、K、Na、Zn和Mn,且这7种元素在不同年限的样品中含量差异较大;元素Ca、Mg、K的含量都在4年生黄芩中达到最大值,元素Ca和Mg的含量变化均表现为4年生>3年生≈2年生>1年生,元素K含量均值变化表现为4年生>1年生≈2年生>3年生;元素Cu、Zn和Mn的含量在3年生黄芩中达到最大值,元素Cu含量变化表现为3年生≈4年生>1年生≈2年生,元素Zn含量变化表现为3年生>2年生>1年生≈4年生,元素Mn含量变化则表现为3年生>1年生≈4年生>2年生。此外,个别元素如Na含量的最大值出现在1年生黄芩中,其含量变化表现为1年生>2年生>3年生>4年生,不同于其他几种元素的积累规律,原因可能与不同产地土壤元素的分布存在差异性、元素吸收积累过程中相互之间的影响等因素密切相关。

2.8 PCA 选择黄芩中15个元素的含量作为变量,导入SPSS 23.0进行PCA,得各元素的特征值与贡献率,见表4。以特征值>1为标准,提取前5个主成分,其累积贡献率达85.805%,说明这5个主成分可代表黄芩中无机元素的整体特征信息。又通过对特征值及因子载荷矩阵进行方差最大化正交旋转后,获得主成分因子载荷矩阵,其中第1主成分与Cd、Cu、Ni、Na呈高度正相关;第2主成分与Mg、Fe、

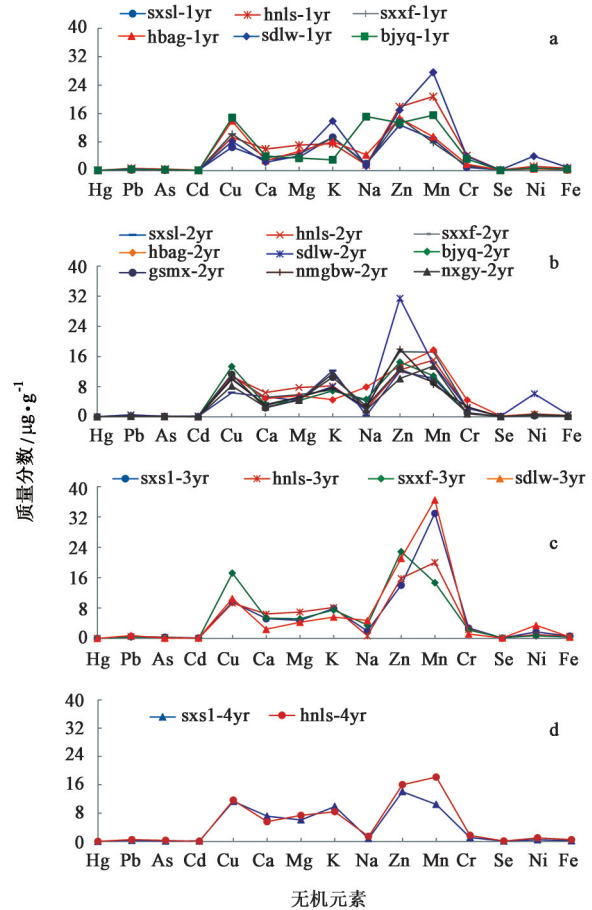


图2 1年生(a)、2年生(b)、3年生(c)和4年生(d)黄芩的元素特征谱

Fig. 2 Characteristic spectrum of inorganic elements in annual (a), biennial (b), triennial (c) and quadrennial (d) Scutellariae Radix

As呈高度正相关,第3主成分与Ca呈高度正相关,第4主成分与Zn、Mn呈高度正相关,第5主成分与Hg呈高度正相关。结果表明元素Cu、Ni、Cd、Na、Mg、Fe、Ca、Zn、Mn、Hg是黄芩的特征无机元素,见表5。王升等^[13]通过对Ca、K、Fe、Mg、Mn、Cr、Zn、Cu、锶(Sr)、P这10种元素含量的PCA研究,得到了类似结果,发现Mg、K、Ca、Fe、Zn是黄芩的主要特征无机元素。

2.9 Fisher判别函数 Fisher判别函数法是一种基于方差分析思想的判别分析方法,将高维空间的点向低维空间投影,使得组间的区别最大,组内的区别最小,再依据不同的投影建立相应判别函数^[24-26]。通过PCA将原始数据降维后,开展Fisher判别研究。结果发现判别函数 F_1 和 F_2 的特征值分别为15.454、2.103,方差贡献率则分别为81.8%、11.1%,这2个函数的累积贡献率已达92.9%,提示联合 F_1 和 F_2 对黄芩年限进行分类,可取得较好的分类结

表4 黄芩中15种元素的PCA特征值及贡献率

Table 4 Eigenvalues and contribution rates of 15 elements in Scutellariae Radix by PCA

主成分	主成分特征值和贡献率		
	特征值	贡献率/%	累积贡献率/%
1	4.831	32.204	32.204
2	3.242	21.611	53.815
3	2.414	16.093	69.908
4	1.272	8.481	78.388
5	1.112	7.417	85.805
6	0.750	5.002	90.807
7	0.386	2.572	93.379
8	0.373	2.484	95.862
9	0.269	1.791	97.653
10	0.166	1.109	98.762
11	0.100	0.664	99.426
12	0.043	0.285	99.710
13	0.030	0.202	99.913
14	0.013	0.084	99.997
15	0.000	0.003	100.000

表5 黄芩中15种元素旋转变换后因子矩阵

Table 5 Factor matrix after rotation transformation of 15 elements in Scutellariae Radix

元素	主成分1	主成分2	主成分3	主成分4	主成分5
Hg	-0.128	0.108	-0.019	0.321	0.865
Pb	0.625	0.518	0.051	0.227	-0.058
As	-0.043	0.715	0.157	0.536	0.116
Cd	0.856	-0.128	-0.072	-0.094	0.383
Cr	-0.004	-0.072	0.793	0.239	-0.428
Cu	0.883	0.068	0.126	0.086	-0.213
Zn	-0.078	0.135	0.056	0.825	0.418
Mn	0.017	0.201	-0.082	0.883	0.009
Fe	0.431	0.866	-0.115	0.116	-0.079
Ni	0.929	0.122	-0.052	-0.134	0.002
Se	-0.138	-0.127	-0.902	-0.079	-0.155
Ca	-0.134	0.180	0.860	-0.392	0.034
Mg	0.094	0.882	0.227	0.054	0.150
K	0.620	0.204	0.220	0.246	-0.124
Na	0.873	0.262	-0.196	-0.292	-0.161

果。以Hg(X_1)、Pb(X_2)、As(X_3)、Cd(X_4)、Cu(X_5)、Zn(X_6)、Ca(X_7)、Mg(X_8)、Fe(X_9)、Mn(X_{10})、K(X_{11})、Na(X_{12})、Cr(X_{13})、Se(X_{14})和Ni(X_{15})共15种元素的含量为指标,分别建立 F_1 和 F_2 的函数模型,得到 $F_1=2\ 398.471X_1+10.938X_2-51.828X_3-133.761X_4+0.859X_5-$

$0.600X_6-1.032X_7+12.909X_8+5.446X_9+0.454X_{10}+2.884X_{11}+1.407X_{12}-1.347X_{13}-41.056X_{14}-7.77$, $F_2=459.319X_1+2.379X_2-17.621X_3-3.413X_4+0.555X_5-0.16X_6+4.435X_7+2.214X_8+112.86X_9+0.01X_{10}-2.636X_{11}-2.547X_{12}-1.533X_{13}-9.412X_{14}-2.508$ 。将元素含量数据带入 F_1 和 F_2 ,计算特征空间中的新坐标(x,y),其中 x 是基于 F_1 计算出来的数值, y 则是基于 F_2 计算出来的数值,相关数据见表6。Fisher判别分析的二维散点图见增强出版附加材料,结果发现1年生、2年生、3年生和4年生黄芩这4个类别区分度良好。

表6 黄芩中15种元素的Fisher判别函数的系数与常量

Table 6 Coefficients and constants of Fisher discriminant function for 15 elements in Scutellariae Radix

元素	F_1	F_2
Hg	2 398.471	459.319
Pb	10.938	2.379
As	-51.828	-17.621
Cd	-133.761	-3.413
Cu	0.859	0.555
Zn	-0.600	-0.160
Ca	-1.032	4.435
Mg	12.909	2.124
Fe	5.446	112.860
Mn	0.454	0.010
K	2.884	-2.636
Na	1.407	-2.547
Cr	-1.347	-1.533
Se	-41.056	-9.412
常量	-7.770	-2.508

2.10 SVM SVM是利用核函数将数据映射到更高维空间,对不同类样本进行划分,通过构造最优超平面来实现全局最优解的分类方法,更适用小样本分类的学习方法^[27-28]。核函数的选择与参数寻优选对SVM模型建立及预测精度的影响至关重要。将 F_1 和 F_2 生成的数据导入MATLAB R2017a中Classification Learner模块,创建基于SVM的黄芩年限分类模型。通过径向基核函数的筛选,确定惩罚参数和核函数宽度,采用五折交叉验证方法优化参数,构建黄芩年限的分类预测模型,以模型正确率和受试者工作特征(ROC)曲线下面积(AUC)作为评价模型性能良好与否的标准,结果发现采用二次线性核函数所建模型正确率和AUC较高。由图3可知,所建立模型中1年生6个样本、2年生9个样

本、3年生的4个样本均能全部准确判定,而4年生的2个样本中有1个被误判为2年生。该模型预测的总正确率95.2%,表明所建模型的预测性能较好。ROC曲线中AUC越接近1,表明模型准确率和泛化能力越好,结果发现不同年限黄芩样品的AUC均>0.99,说明采用基于SVM建立的模型能较好地区别不同年限黄芩。

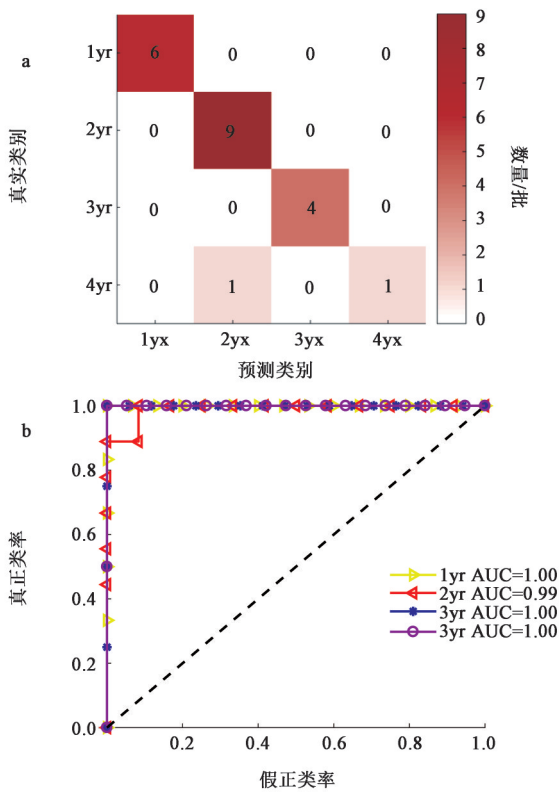


图3 不同年限黄芩的SVM混淆矩阵(a)和ROC曲线(b)
Fig. 3 Confusion matrix (a) and ROC curve (b) of SVM for Scutellariae Radix with different years

3 讨论

本研究采用ICP-OES和ICP-MS测定了21批黄芩样品中Mn、Zn、Ca、Fe、Mg、Na、K、Cr、Cu、Se、As、Cd、Hg、Pb和Ni共15种无机元素含量,并绘制了黄芩的无机元素特征图谱,结果发现21批不同产地、不同年限黄芩的无机元素特征图谱均呈现出相似的整体特征,但其明显不同于其他中药材的元素特征图谱。总体而言,黄芩中Mn、Zn、Cu、K、Mg和Ca元素的含量随着生长年限的延长而增加,当生长年限为3年或4年时含量达到最大值。本课题组前期报道已阐述无机元素对黄芩功效的重要性^[9],因此建议后续构建黄芩的质量评价体系时,应考虑将这些元素纳入评价指标体系。

在建模过程中,为了解决样本数量少的问题,

本研究利用SVM适用于小样本分类的技术优势,开展了PCA、Fisher判别函数和SVM等统计方法的融合研究,构建了基于黄芩中特征元素的年限鉴别模型,能较好地识别黄芩年限,但后续还需继续收集不同年限黄芩,以进一步验证并优化模型。本文研究结果显示,不同产地的21批黄芩中无机元素离散度较大,这与王升等^[13]研究结果基本一致。同时,王升等^[13]研究结果还表明,不同产地黄芩及其根际土壤无机元素变异较大,且根际土壤中无机元素的变异远大于黄芩药材中无机元素的变异,提示土壤无机元素对黄芩无机元素积累的重要性不容忽视。后续应重视不同生长年限黄芩(野生品与栽培品)中无机元素含量与相应土壤中无机元素含量的关联研究,多角度探究黄芩中无机元素的吸收积累规律,制定个性化的施肥方案,为黄芩标准化种植提供参考。此外,本文21批黄芩中检出了微量的重金属及有害元素Pb、Cd、As、Hg和Cu,但其含量均符合《药用植物及制剂外经贸绿色行业标准》的限量标准。但考虑到黄芩是临床组方的常用药,后续还应考察口服剂量、服药次数、服药周期、人体吸收等对上述5种元素在人体内蓄积的综合影响机制,以制订更加完善的质量控制体系^[29-30],这对于黄芩的临床安全用药具有重要意义。

[利益冲突] 本文不存在任何利益冲突。

[参考文献]

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典:一部[M]. 北京:中国医药科技出版社,2020:314.
- [2] 郭玲玲,刘毅,禄梦杰,等. HPLC法同时测定陕西产不同生长年限野生和栽培黄芩中9种化学成分的含量[J]. 中草药,2018,49(4):935-940.
- [3] 田甜. 不同产地和生长年限黄芩质量评价及药理作用研究[D]. 杭州:浙江理工大学,2018.
- [4] 缪晓素,宋国虎,刘容秀,等. 不同栽培年限及采收期对黄芩药材有效成分含量的影响研究[J]. 中国现代中药,2015,17(8):836-839.
- [5] 魏莹莹,王晓,张琳,等. 不同生长年限黄芩根部活性成分分布及微观结构研究[J]. 中药材,2015,38(5):911-914.
- [6] 杨冬野,蔡少青,王璇,等. 不同生长年限野生与栽培黄芩的药材鉴定研究[J]. 中国中药杂志,2005,30(22):8-15.
- [7] 吴立洁,杨瑶珺,张子龙,等. 8种止血类中药无机元素的含量特征与性味功效的关系[J]. 中华中医药学刊,2014,32(10):2314-2316.
- [8] KOLASANI A, XU H, MILLIKAN M. Evaluation of

- mineral content of Chinese medicinal herbs used to improve kidney function with chemometrics[J]. Food Chem, 2011, 127(4): 1465-1471.
- [9] 李化, 刘静, 付梅红, 等. 黄芩中金属元素水溶特性和含量特征分析[J]. 光谱学与光谱分析, 2014, 34(8): 2264-2267.
- [10] 杨波, 王振国. 植物类中药寒热药性与无机元素相关性研究[J]. 南京中医药大学学报, 2011, 27(2): 109-111.
- [11] 邓家刚, 刘进, 覃洁萍, 等. 20种活血化瘀中药中14种无机元素的测定及与药性的相关性[J]. 华西药学杂志, 2009, 24(1): 70-73.
- [12] 孙厚云, 孙晓明, 贾凤超, 等. 河北承德锆元素生态地球化学特征及其与地道药材黄芩适生关系[J]. 中国地质, 2020, 47(6): 1646-1667.
- [13] 王升, 赵曼茜, 郭兰萍, 等. 不同产地黄芩中无机元素含量及其与根际土壤无机元素的关系[J]. 生态学报, 2014, 34(16): 4734-4745.
- [14] 李化, 李韦, 曾洁, 等. ICP-OES法研究黄芩中常见营养元素的配置规律[J]. 光谱学与光谱分析, 2012, 32(11): 3135-3138.
- [15] 贾妙婷, 孙天雄, 汪莉, 等. 不同生长期红芪无机元素动态特征探究[J]. 中成药, 2021, 43(5): 1249-1252.
- [16] 陈松树, 赵致, 王华磊, 等. 不同生长年限的贵州党参质量和矿质元素分析[J]. 时珍国医国药, 2020, 31(6): 1461-1463.
- [17] 强正泽, 李成义, 王燕, 等. 红芪生长年限与无机元素相关性研究[J]. 天然产物研究与开发, 2017, 29(9): 1535-1541+1572.
- [18] 陈军辉, 谢明勇, 傅博强, 等. 西洋参中无机元素的主成分分析和聚类分析[J]. 光谱学与光谱分析, 2006, 26(7): 1326-1329.
- [19] 杨晓阳, 岳媛, 黄红, 等. ICP-MS及AAS法测定川明参的无机营养元素[J]. 中药材, 2017, 40(12): 2788-2794.
- [20] 李凤霞, 欧阳荔, 刘亚琼, 等. 466份中药材无机元素测定及结果分析[J]. 中国中药杂志, 2011, 36(21): 2994-3000.
- [21] 郭兰萍, 王升, 张霁, 等. 生态因子对黄芩次生代谢产物及无机元素的影响及黄芩道地性分析[J]. 中国科学: 生命科学, 2014, 44(1): 66-74.
- [22] 朱艳霞, 骆翔, 赵东平, 等. 黄芩、黄芩茶及其水溶液中矿质元素含量分析[J]. 光谱学与光谱分析, 2011, 31(11): 3112-3114.
- [23] 左甜甜, 张磊, 王莹, 等. 中药材及饮片中重金属及有害元素限量制定的探讨[J]. 药物分析杂志, 2020, 40(4): 688-693.
- [24] 刘明芝, 周仁郁. 中医药统计学与软件应用[M]. 北京: 中国中医药出版社, 2006: 280-284
- [25] 梁社往, 何忠俊, 熊俊芬, 等. 基于稳定同位素指纹的春三七主根产地判别研究[J]. 中国中药杂志, 2021, 46(3): 560-566.
- [26] GAO F Y, XU Z H, WANG W Z, et al. A comprehensive strategy using chromatographic profiles combined with chemometric methods: Application to quality control of *Polygonum cuspidatum* Sieb. et Zucc [J]. J Chromatogr A, 2016, 1466: 67-75.
- [27] KHAZAE A, EBRAHIMZADE A. Classification of electrocardiogram signals with support vector machines and genetic algorithms using power spectral features[J]. Biomed Signal Proc, 2010, 5(4): 252-263.
- [28] 刘晨阳, 许黄蓉, 段峰, 等. 基于遗传算法-支持向量机的兔肝 VX2 肿瘤光谱鉴别[J]. 光谱学与光谱分析, 2021, 41(10): 3123-3128.
- [29] 张雪婷, 钟承赞, 杨明, 等. 金水宝胶囊生产过程中质量控制方法的建立[J]. 中国实验方剂学杂志, 2020, 26(4): 139-144.
- [30] 杜钢, 刘美玲, 黄璐瑶, 等. 不同来源银耳多糖的质量评价[J]. 中国实验方剂学杂志, 2020, 26(19): 210-216.

[责任编辑 刘德文]