

- and survival[J]. *Genes Dev*, 2001, 15(21): 2865-2876.
- [26] BOHENSKY J, TERKHORN S P, FREEMAN T A, et al. Regulation of autophagy in human and murine cartilage: hypoxia-inducible factor 2 suppresses chondrocyte autophagy[J]. *Arthritis and Rheumatism*, 2009, 60(5): 1406-1415.
- [27] ZHANG F J, LUO W, LEI G H. Role of HIF-1 α and HIF-2 α in osteoarthritis[J]. *Joint Bone Spine*, 2015, 82(3): 144-147.

【责任编辑：侯丽颖】

基于稳定同位素比值的阳春砂产地判别分析

钟慧怡, 黄海波, 陈玉娥, 覃挺红
(广州中医药大学中药学院, 广东广州 510006)

摘要:【目的】测定不同产地阳春砂的稳定同位素比值, 探讨其地域特征及产地溯源的可能性。【方法】采用稳定同位素质谱法测定阳春砂中同位素比率, 结合正交偏最小二乘法判别分析(OPLS-DA), 分别对广东、广西、云南3个省份及阳春、崇左、西双版纳、文山4个地域代表性产地进行初步判别, 筛选出具有显著差异性的同位素, 采用线性判别分析(LDA)方法建立阳春砂产地判别模型。【结果】不同产地的阳春砂中稳定同位素 $\delta^{13}\text{C}$ 、 δD 、 $\delta^{15}\text{N}$ 数值范围不同, 具有一定的地域特征, 其中 $\delta^{13}\text{C}$ 、 δD 为显著差异性同位素。建立的LDA判别模型对广东、广西和云南产地的判定准确率为76.9%, 4个代表性产地的判定准确率为89.7%。【结论】利用稳定同位素比值结合多元统计方法可较好地进行了阳春砂产地溯源, 具有一定的可行性和应用价值。

关键词: 阳春砂; 产地溯源; 稳定同位素; 多元统计法

中图分类号: R282.5

文献标志码: A

文章编号: 1007-3213(2021)10-2224-07

DOI: 10.13359/j.cnki.gzxbtcm.2021.10.030

Discrimination and Analysis of Geographical Origin of *Amomum villosum* Based on Stable Isotope Ratio

ZHONG Hui-Yi, HUANG Hai-Bo, CHEN Yu-E, QIN Ting-Hong

(School of Chinese Herbal Medicine, Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510006 Guangdong, China)

Abstract: **Objective** To measure the stable isotope ratio of *Amomum villosum* from different habitats, and to explore its regional characteristics and possibility of geographic origin. **Methods** An isotope ratio-mass spectrometry was used to measure the stable isotope ratio of *Amomum villosum*, and combined with orthogonal partial least

收稿日期: 2020-10-28

作者简介: 钟慧怡(1995-), 女, 硕士研究生; E-mail: 704457617@qq.com

通讯作者: 黄海波(1965-), 男, 副教授; E-mail: bobhwang@gzucm.edu.cn

基金项目: 第四次全国中药资源普查项目(编号: 广东省 GZY-KJS-2019-003); 2017年广东省岭南中药材保护资金——广东省首批8种中药材保护品种生产技术规范制定和完善专项(编号: 粤财社[2017]60号)

squares discrimination analysis (OPLS-DA) to preliminarily distinguish the 3 provinces such as Guangdong, Guangxi and Yunnan, and 4 regional representative habitats such as Yangchun, Chongzuo, Xishuangbanna and Wenshan to screen out the significant elements, and then linear discrimination analysis (LDA) was used to establish the discrimination models of *Amomum villosum*. **Results** The values of $\delta^{13}\text{C}$ 、 δD 、 $\delta^{15}\text{N}$ in *Amomum villosum* from different habitats were different, and showed a specific character of geographic origin, among which $\delta^{13}\text{C}$ and δD were significantly different isotopes. The correct discrimination rate of the established LDA model was 76.9% for the *Amomum villosum* samples from Guangdong, Guangxi and Yunnan, and 89.7% for the samples from 4 representative regions. **Conclusion** Determination of stable isotope ratio combined with multivariate statistical method applied is effective for tracing the geographic origin of *Amomum villosum*, which is of certain feasibility and application value.

Keywords: *Amomum villosum*; geographic origin; stable isotope; multivariate statistical method

阳春砂为姜科植物 *Amomum villosum* Lour. 的干燥成熟果实, 味辛、性温, 归脾、胃、肾经, 具有化湿开胃、温脾止泻、理气安胎等功效, 临床上多用于湿浊中阻、脘痞不饥、脾胃虚寒等证^[1], 是治疗胃肠疾病的常用药, 为“香砂六君丸”“香砂理中丸”等著名中成药的组方原料^[2]。阳春砂主要产于广东省阳春市, 近年来产区逐渐由阳春及其周边变迁到广西南宁、百色、崇左及云南西双版纳、红河等地。由于引种产地具有适宜的环境气候和较为成熟的种植技术, 阳春砂得到了大规模的种植。但不同产地的阳春砂在化学成分和药理作用上有所差别(道地产地的质量较优), 且其市场价格差距较大, 以次充好的现象时常发生, 造成了阳春砂商品来源复杂混乱的现状^[3], 因此, 为保护药材道地性、提升消费者信心, 有必要对阳春砂进行产地溯源。目前, 常用的溯源技术主要有高效液相色谱法、气相色谱法以及稳定同位素比质谱法等, 其中, 稳定同位素比质谱法是近年来逐步发展的一种新型溯源技术, 广泛应用于各行各业如中药材^[4-7]、稻米^[8]、茶叶^[9]、果蔬类^[10-11]等的产地溯源, 具有无污染、高精密度、高准确度等优点。既往有研究发现: 不同产地何首乌的稳定同位素比值具有明显的地域分布特征, 结合化学计量学方法可有效对何首乌进行产地溯源^[5]; 利用碳、氮稳定同位素对青海、云南、四川以及尼泊尔等12个产地的冬虫夏草样品进行产地区分, 结果发现不同地区的样品之间 $\delta^{15}\text{N}$ 差异较大, 可以利用 $\delta^{15}\text{N}$ 比值对大多数样品的产地来源

进行有效的区分^[7]; 不同产地的茶叶中稳定同位素 $\delta^{15}\text{N}$ 、 $\delta^{13}\text{C}$ 、 δD 和 $\delta^{18}\text{O}$ 的数值范围也不同, 表现出一定的地域特征^[9]。本研究采用稳定同位素比质谱法检测, 结合正交偏最小二乘法判别分析(OPLS-DA)与线性判别分析方法(LDA)建立阳春砂产地判别模型, 初步对广东、广西及云南产的阳春砂进行产地溯源和判别, 探讨用于阳春砂产地溯源和地理标志产品保护的可行性, 以期对阳春砂的道地性保护提供借鉴和技术支持。现将研究结果报道如下。

1 材料与方法

1.1 实验材料 阳春砂样品主要采集于广东、广西和云南3省, 购于当地药农, 由广州中医药大学中药学院黄海波副教授鉴定为姜科植物阳春砂(*Amomum villosum* Lour.), 总样品量为39个。收集的干果用密封袋封装, 置于4℃冰箱冷藏保存。样品产地信息见表1、图1。

1.2 阳春砂样品的测定

1.2.1 碳、氮稳定同位素比值的测定 称取5g制备好的样品包入锡囊, 排尽空气, 放入元素分析仪的固体进样器依次进样。样品在高温的过氧环境下瞬间燃烧, 燃烧产生的气体被氮载气流带入并通过氧化还原反应管, 气体在高纯氮气的运载下经还原转化成 $\text{CO}_2(\text{N}_2)$, 随后气体通过色谱柱将 CO_2 和 N_2 气体分开后进入质谱仪的离子源进行电离, 形成的离子束经磁分析器将不同质荷比的离子完全分离, 最后进入到检测器进行分析和测

表1 阳春砂样品产地信息表

Table 1 The information of *Amomum villosum* habitats

分组	采集地点	样品份数(份)	经纬度	年平均气温(℃)	年平均降水量(mm)
广东	广东阳春	7	111°16' ~ 112°09'E 21°50' ~ 22°41'N	22.3	2 116.0
	广东信宜	1	110°40' ~ 111°40'E 22°11' ~ 22°42'N	22.6	1 816.2
	广东肇庆	2	111°21' ~ 112°52'E 22°47' ~ 24°24'N	21.2	1 650.0
广西	广西南宁	3	107°19' ~ 109°38'E 22°12' ~ 24°32'N	21.6	1 304.2
	广西崇左	8	106°33' ~ 108°06'E 21°36' ~ 23°22'N	21.2	1 200.0
	广西百色	1	104°28' ~ 107°54'E 22°51' ~ 25°07'N	22.0	1 000.0
云南	云南文山	7	103°35' ~ 106°12'E 22°40' ~ 24°48'N	19.0	779.0
	云南红河	1	101°47' ~ 104°16'E 22°26' ~ 24°45'N	16.3	2 026.5
	云南西双版纳	7	99°55' ~ 101°50'E 21°10' ~ 22°40'N	20.5	1 324.5
	云南德宏	2	97°31' ~ 98°43'E 23°50' ~ 25°20'N	19.2	1 550.0
共计		39			

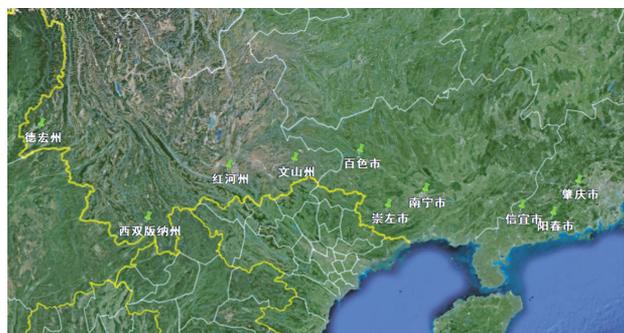


图1 阳春砂样品采集地点

Figure 1 The locations of collecting *Amomum villosum* samples

定。测定结果用单点校正法计算。

元素分析仪测定：氧化炉温度 1 020 ℃，还原炉温度 680 ℃，载气流速 90 ~ 100 mL·min⁻¹，注氧时间 3 s，吹扫流量 180 mL·min⁻¹。

1.2.2 氢稳定同位素比值的测定 称取适量的样品于锡杯中并将其放置于 90 ℃的烘箱内干燥 12 h，以去除样品表面的吸附。再将烘烤后的样品置于高温裂解炉中进行裂解反应，矿物包体水、含羟基的单矿物或有机物在裂解释放后与玻璃碳瞬间反应生成 H₂，被高纯氦气携带经过色谱柱进入同位素质谱仪，测定 H₂的同位素比值 δD。测定结果用单点校正法计算。

元素分析仪测定：炉温 1 380 ℃，载气流速 150 mL·min⁻¹，吹扫流量 200 mL·min⁻¹。色谱柱温 50 ℃。

2 测定结果与数据分析

2.1 计算方法与数据处理 重同位素丰度与轻同位素丰度之比用同位素比值 R 表示，样品 R 值与国家标准物 R 值的比较用 δ 来表示，即 δ¹³C、δ¹⁵N、δD，用该值代表样品的同位素比值，计算公式：
$$\delta(\text{‰}) = (R_{\text{样品}}/R_{\text{标准}} - 1) \times 1\,000.$$

应用 SPSS 23.0 统计软件对不同产地的阳春砂样品 3 种稳定同位素比值进行差异分析及线性判别分析。利用 SIMCA-P Version 14.1 软件(瑞典 Umetrics AB 公司)进行正交偏最小二乘法判别分析。

2.2 阳春砂 C、N、H 稳定同位素比值差异分析 阳春砂样品中 δ¹³C、δ¹⁵N 及 δD 的含量测定结果见表 2，利用 K-W 检验不同组间的同位素比值是否有差异。从表 3 得知，不同省份之间的 δ¹³C 和 δD 有显著性差异 (P < 0.01)，表明 3 个省份阳春砂的同位素比值有差异，能够为后续产地判别的可行性提供依据。所测得的 39 份阳春砂中的 δ¹³C 值在 -31.41‰ ~ -25.44‰ 之间，根据均值大小排列依次是云南 > 广东 > 广西；3 个省份的 δ¹⁵N 值在 -2.61‰ ~ 2.93‰ 之间，按大小排列依次是云南 > 广西 > 广东。其比值相差不大，说明不同省份阳春砂的生长环境及施肥方式等因素不足以造成氮同位素比值的显著性差异。降水影响着氢同位素的组成，距海越近，雨水及地下水中 D 含量越大。所测得的样品 δD 值在 -68.76‰ ~ -45.64‰ 之间，不同省份之间 δD 值差异较大，按大小排列依次是广东 > 广西 > 云南。

表 2 阳春砂样品 C、N、H 稳定同位素测定结果
Table 2 Determination results of C, N, H stable isotopes of *Amomum villosum*

序号	产地	$\delta^{13}\text{C}$	$\delta^{15}\text{N}$	δD
1	广东阳春	-26.75	0.69	-45.75
2	广东阳春	-27.29	-0.46	-47.83
3	广东阳春	-27.25	0.41	-52.13
4	广东阳春	-27.93	2.24	-54.15
5	广东阳春	-28.14	-0.04	-45.64
6	广东阳春	-26.77	0.88	-55.39
7	广东阳春	-25.94	-0.40	-47.24
8	广东信宜	-30.92	1.31	-54.43
9	广东肇庆	-31.41	-0.47	-54.69
10	广东肇庆	-31.19	0.20	-56.82
11	广西崇左	-28.83	-0.55	-55.60
12	广西崇左	-28.06	0.32	-54.22
13	广西崇左	-28.45	0.63	-56.40
14	广西崇左	-31.10	-0.15	-50.05
15	广西崇左	-31.35	-0.10	-51.60
16	广西崇左	-30.84	1.76	-49.08
17	广西崇左	-30.18	0.16	-53.57
18	广西崇左	-30.29	2.41	-63.16
19	广西南宁	-30.73	0.40	-53.23
20	广西南宁	-28.50	1.90	-62.66
21	广西南宁	-27.15	-0.22	-62.29
22	广西百色	-29.26	0.68	-49.80
23	云南德宏	-30.13	-2.61	-50.16
24	云南德宏	-25.44	2.38	-65.48
25	云南红河	-26.24	-0.59	-65.55
26	云南西双版纳	-28.66	2.22	-57.44
27	云南西双版纳	-25.95	1.52	-68.76
28	云南西双版纳	-28.36	2.93	-65.33
29	云南西双版纳	-28.98	1.86	-68.66
30	云南西双版纳	-27.16	2.52	-61.67
31	云南西双版纳	-27.48	1.02	-60.34
32	云南西双版纳	-29.32	1.03	-62.17
33	云南文山	-27.07	0.89	-61.53
34	云南文山	-27.19	0.86	-59.10
35	云南文山	-26.78	1.52	-61.86
36	云南文山	-26.96	0.42	-59.20
37	云南文山	-27.28	0.74	-59.69
38	云南文山	-26.68	-0.03	-62.17
39	云南文山	-26.84	1.02	-58.47

表 3 K-W 检验统计

Table 3 Statistical results of K-W test

同位素	K-W 检验		
	卡方检验	自由度	显著性
$\delta^{13}\text{C}$	10.118	2	0.006
$\delta^{15}\text{N}$	4.451	2	0.108
δD	17.309	2	0.000

进一步选取样品数较多、具有地域代表性的产地进行分组, 分别是广东阳春、广西崇左、云南西双版纳、云南文山这 4 个产地样品的 $\delta^{13}\text{C}$ 、 $\delta^{15}\text{N}$ 、 δD 比值进行差异分析。4 个代表产区的阳春砂 $\delta^{13}\text{C}$ 值介于 $-31.35\text{‰} \sim -25.94\text{‰}$ 之间, 崇左相对贫化, 文山相对富集。 $\delta^{15}\text{N}$ 值介于 $-1.02\text{‰} \sim 2.93\text{‰}$ 之间, 崇左相对贫化, 西双版纳相对富集。 δD 值则介于 $-68.76\text{‰} \sim -45.64\text{‰}$ 之间, 西双版纳相对贫化, 阳春相对富集。具体结果见表 4~5。

2.3 正交偏最小二乘法判别分析 观察表 2~5 数据, 可以发现 3 个省份的阳春砂样品中 $\delta^{13}\text{C}$ 、 $\delta^{15}\text{N}$ 、 δD 的含量比值存在一定的差异。为了使分析结果更加直观可靠, 且具有统计学意义, 采用有监督性分析 OPLS-DA, 可减少组内差异, 筛选造成分类的差异变量。为了帮助选择贡献较大的差异组分, 变量权重重要性排序 (variable importance in projection, VIP) 值被作为多维模型差异元素选择的指标^[12]。VIP 值越大, 该成分在不同省份的阳春砂样品中的差异越显著。按照经验值, VIP 值大于 1 的组分即为多维模型的贡献变量, 其中, VIP 值大于 1.5 的组分可被标记为非常显著的贡献变量。

将样品按省份分为广东、广西和云南 3 组, 利用 $\delta^{13}\text{C}$ 、 $\delta^{15}\text{N}$ 、 δD 这 3 个同位素比值进行正交偏最小二乘法判别分析, OPLS-DA 得分见图 2。广东与云南的样品得到较好的分离, 但广西有部分样品与广东、云南均有重叠, 不能较好地分离。3 个省份样品的同位素 VIP 值见表 6, VIP 值大于 1 的组分共 2 种, δD 、 $\delta^{13}\text{C}$ 为贡献变量, 其中 δD 标记为非常显著的贡献变量, 说明这 2 个同位素在样品

表 4 3 个省份阳春砂样品 C、N、H 稳定同位素描述统计表
Table 4 Description of statistics of C, N, H stable isotopes of *Amomum villosum* from 3 provinces

同位素	分组	个案数 (个)	最大值 (‰)	最小值 (‰)	$\bar{x} \pm s$ (‰)	变异系数
$\delta^{13}\text{C}$	广东	10	-25.94	-31.41	-28.36 ± 2.04	-0.07
	广西	12	-27.15	-31.35	-29.56 ± 1.27	-0.04
	云南	17	-25.44	-30.13	-27.44 ± 1.25	-0.05
$\delta^{15}\text{N}$	广东	10	2.24	-0.47	0.44 ± 0.87	2.01
	广西	12	2.41	-0.55	0.60 ± 0.94	1.55
	云南	17	2.93	-2.61	1.04 ± 1.32	1.26
δD	广东	10	-45.64	-56.82	-51.41 ± 4.33	-0.08
	广西	12	-49.08	-63.16	-55.14 ± 5.09	-0.09
	云南	17	-50.16	-68.76	-61.62 ± 4.48	-0.07

表5 4个代表产区的阳春砂样品C、N、H稳定同位素描述统计表

Table 5 Description of statistics of C, N, H stable isotopes of *Amomum villosum* from 4 representative habitats

同位素	分组	个案数(个)	最大值(‰)	最小值(‰)	$\bar{x} \pm s$ (‰)	变异系数
$\delta^{13}\text{C}$	广东阳春	7	-25.94	-28.14	-27.15 ± 0.75	-0.03
	广西崇左	8	-28.06	-31.35	-29.89 ± 1.36	-0.05
	云南西双版纳	7	-25.95	-29.32	-27.99 ± 1.19	-0.04
	云南文山	7	-26.68	-27.28	-26.97 ± 0.22	-0.01
$\delta^{15}\text{N}$	广东阳春	7	2.24	-0.46	0.47 ± 0.93	1.97
	广西崇左	8	2.41	-0.55	0.30 ± 1.02	3.44
	云南西双版纳	7	2.93	-1.02	1.87 ± 0.73	0.39
δD	广东阳春	7	-45.64	-55.39	-49.73 ± 4.08	-0.08
	广西崇左	8	-49.08	-63.16	-54.21 ± 4.43	-0.08
	云南西双版纳	7	-57.44	-68.76	-63.48 ± 4.27	-0.07
	云南文山	7	-58.47	-62.17	-60.29 ± 1.52	-0.03

分类中起着关键作用。

再选取广东阳春、广西崇左、云南西双版纳、云南文山这4个产地样品的 $\delta^{13}\text{C}$ 、 $\delta^{15}\text{N}$ 、 δD 比值进行OPLS-DA分析,得分见图3。由图可知:文山的样品得到较好的分离,样品间的距离小;阳春的样品也基本得到分离,但各样品间的距离较大;而崇左和西双版纳的分离效果较差,崇左的部分样品落在阳春和西双版纳的范围内,西双版纳的样品分布位置较散,有部分样品与文山归

表6 阳春砂样品的同位素VIP值

Table 6 The VIP values of *Amomum villosum* samples

同位素	VIP值	
	3个省份	4个代表产区
$\delta^{13}\text{C}$	1.877 21	1.740 38
$\delta^{15}\text{N}$	1.312 44	1.590 52
δD	0.660 44	0.720 22

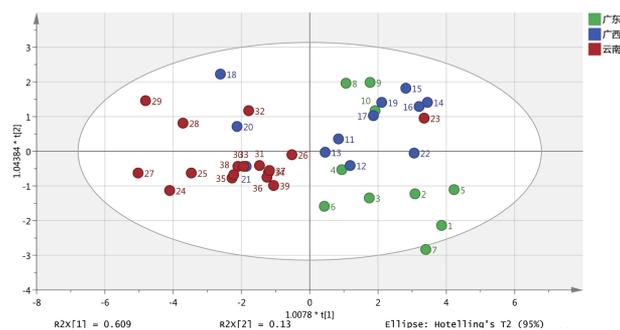


图2 广东、广西、云南阳春砂样品的同位素OPLS-DA得分图

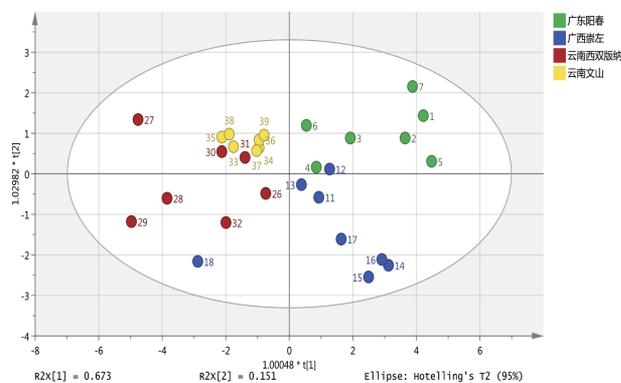
Figure 2 OPLS-DA scores of *Amomum villosum* from Guangdong, Guangxi and Yunnan

图3 阳春、崇左、西双版纳、文山阳春砂样品的同位素OPLS-DA得分图

Figure 3 OPLS-DA scores of *Amomum villosum* from Yangchun, Chongzuo, Xishuangbanna and Wenshan

为一类。4个产地样品的同位素VIP值见表6,贡献变量同样为 δD 、 $\delta^{13}\text{C}$,且均被标记为极显著的贡献变量。

2.4 基于线性判别分析方法的阳春砂产地区分模型 通过OPLS-DA筛选出具有显著差异性的同位素 $\delta^{13}\text{C}$ 、 δD ,利用这2个同位素比值进行线性判别分析,判别结果显示产地回判的正确率有76.9%,分类结果见表7。有30.0%的广东样品被错误地归类到广西,16.6%的广西样品也被误归到广东。由于云南的地理位置与广东差距较大,两省份的样品无相互错判的情况,分类效果较好。但云南与广西位置相邻,有11.8%的云南样品被错误归类到广西,16.7%的广西样品也被错误归类到云南。

再针对广东阳春、广西崇左、云南西双版纳

纳、云南文山这4个产地进行判别, 回判正确率89.7%, 说明此模型比较适于阳春砂产地溯源。分类结果见表8。

表7 广东、广西、云南3个省份阳春砂样品稳定同位素判别结果

Table 7 Discrimination results of the stable isotopes of *Amomum villosum* from Guangdong, Guangxi and Yunnan

分组	预测组成员信息			总计(%)
	广东	广西	云南	
广东	70.0	30.0	0.0	100.0
广西	16.6	66.7	16.7	100.0
云南	0.0	11.8	88.2	100.0

注: 正确地对76.9%的原始已分组个案进行了分类

表8 阳春、崇左、西双版纳、文山4个产地阳春砂样品稳定同位素判别结果

Table 8 Discrimination results of stable isotopes of *Amomum villosum* from Yangchun, Chongzuo, Xishuangbanna and Wenshan

分组	预测组成员信息				总计(%)
	阳春	崇左	西双版纳	文山	
阳春	100	0	0	0	100
崇左	0	87.5	12.5	0	100
西双版纳	0	0	71.4	28.6	100
文山	0	0	0	100	100

注: 正确地对89.7%的原始已分组个案进行了分类

3 讨论

由于不同地域的气候、降水、地质、土壤以及人为等因素的不同, 导致生长在地理位置差距大的同种植物的同位素丰度出现一定的差异。植物体内对氮素的固化、同化、吸收和排除过程影响着氮同位素的分馏作用。因此, 植物的生长环境和施肥方式等都可能影响氮同位素比值的显著性变化, 尤其是施肥方式对氮素的影响较为显著^[13-15]。但不同产地阳春砂 $\delta^{15}\text{N}$ 的变化范围较小, 其比值相差不大, 地域特征不明显。说明不同省份阳春砂的生长环境及施肥方式等因素不足以造成氮同位素比值的显著性差异。而 δD 、 $\delta^{13}\text{C}$ 的变化范围较大, 有一定的差异性和地域特征($P < 0.01$)。植物体内C同位素的组成主要与其固定 CO_2 的方式, 即光合途径(C_3 、 C_4 、CAM)有关, 同一物种固定 CO_2 的方式相同且 ^{13}C 在固定范围内, 但气

温、降水及大气中 CO_2 浓度等影响因素可能会造成 $\delta^{13}\text{C}$ 比值的差异, 通常与 ^{13}C 呈负相关关系^[15]。观察表4、5数据, 根据 $\delta^{13}\text{C}$ 均值大小排列依次是云南>广东>广西, 其中, 广西崇左相对贫化, 云南文山相对富集, 可能与云南阳春砂生长环境中的气温、降水量低于其他2个省份的原因有关。云南各产地的气温在16.3~20.5℃之间, 广东与广西的气温较接近, 均在21.2~22.6℃范围内。云南的年平均降水量为779.0~2 026.5 mm, 广西为1 000.0~1 304.2 mm, 而广东的降水量相对较高, 在1 650.0~2 116.0 mm之间。降水也影响着氢同位素的组成, 通常为正相关关系, 距海越近, 雨水及地下水中D含量越大。广东南临南海, 广西南临北部湾, 故广东的 δD 远高于云南, 其中阳春相对富集, 西双版纳相对贫化; 而广西介于二者之间, δD 值介于-68.76‰~-45.64‰之间。

在建立判别模型时, 自变量的个数多并不代表结果更好, 若未加选择地使用全变量进行分析, 可能会产生较大的偏差。因此, 本研究采用OPLS-DA对不同产地的阳春砂样品进行初步判别, 筛选出具有显著差异性的同位素, 再利用经筛选后的差异性指标建立LDA判别模型, 减少出现判别结果的偏差, 提高判别效果及可信度。利用 $\delta^{13}\text{C}$ 、 δD 的比值建立广东、广西、云南等3个省份的产地判别模型, 判别率仅为76.9%, 产地判别的正确率不高。可能因为这3个省份的自然气候和生态环境相似, 不足以导致同位素比率的显著性变化, 所以, 有部分样品被误判到邻近的省份。进一步选取广东阳春、广西崇左、云南西双版纳、云南文山这4个样品数较多且具有地域代表性的产地样品进行判别分析, 所得判别率达到89.7%, 说明这4个产地的判别模型良好, 具有一定的可行性, 但后续仍需要结合更多其他指标作进一步判别分析, 提高模型的准确性。

利用稳定同位素比值建立的判别模型, 正确率不高的可能性有: 分析的指标少, 获得的同位素信息面不全; 所采集的样品其地理位置差距不大, 导致同位素比值的差异不足以准确地区分不同产地的阳春砂; 样本量有限, 无法反映整体的差异性。因此, 需要结合更多的分析指标如无机元素、有机成分等指标, 以及增加地理位置差距大的样品数量来提高判别正确率, 才可为阳春砂

的产地鉴别提供更多的科学依据,以进一步证明该方法的可行性。

综上所述,稳定同位素比质谱法作为一种新型的检测技术,结合多元统计方法可为中药材的产地鉴别提供一种新的思路。结合 OPLS-DA 及 LDA 方法建立不同产地阳春砂的判别模型,分析结果表明广东阳春、广西崇左、云南西双版纳、云南文山这4个产地的判别模型良好,具有地域性特征的 $\delta^{13}\text{C}$ 、 δD 有望被应用于阳春砂产地溯源。

参考文献:

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典: 一部[S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2020: 264-265.
- [2] 郑少燕. 阳春砂优良品种选育及品质评价研究(I) [D]. 广州: 广州中医药大学, 2014.
- [3] 薛荣娟. 论道地药材的地理标志保护[D]. 重庆: 西南政法大学, 2013.
- [4] 杨健, 吴浩, 杨光, 等. 基于稳定同位素比和元素分析技术的何首乌产地识别研究[J]. 中国中药杂志, 2018, 43(13): 2676-2681.
- [5] 孙杨杨. 基于稳定同位素、矿物元素和寡糖的巴戟天产地溯源研究[D]. 广州: 广州中医药大学, 2019.
- [6] 孟靖. 基于稳定同位素质谱技术的枸杞产地溯源研究[D]. 上海: 上海交通大学, 2019.
- [7] 李辉, 姚粟, 刘洋, 等. 稳定同位素碳、氮在冬虫夏草原产地鉴别中的应用[J]. 食品与发酵工业, 2014, 40(7): 173-176.
- [8] 邵圣枝, 陈元林, 张永志, 等. 稻米中同位素与多元素特征及其产地溯源 PCA-LDA 判别[J]. 核农学报, 2015, 29(1): 119-127.
- [9] 袁玉伟, 张永志, 付海燕, 等. 茶叶中同位素与多元素特征及其原产地 PCA-LDA 判别研究[J]. 核农学报, 2013, 27(1): 47-55.
- [10] 张欣昕, 张福金, 刘广华, 等. 基于矿质元素和稳定同位素的马铃薯产地溯源技术[J]. 食品科学, 2020, 41(18): 296-302.
- [11] 李安, 陈秋生, 赵杰, 等. 基于稳定同位素与稀土元素指纹特征的大桃产地判别分析[J]. 食品科学, 2020, 41(6): 323-328.
- [12] 闫新焕, 谭梦男, 孟晓萌, 等. 基于多元统计分析的干制方式对红枣片香气成分的影响[J]. 中国果菜, 2020, 40(7): 51-57.
- [13] 王黎明, 吴浩, 林光辉. 稳定同位素技术在中药产地溯源方面的应用研究进展[J]. 同位素, 2015, 28(4): 225-232.
- [14] CRAINE J M, ELMORE A J, AIDAR M P, et al. Global patterns of foliar nitrogen isotopes and their relationships with climate, mycorrhizal fungi, foliar nutrient concentrations, and nitrogen availability[J]. New Phytologist, 2009, 183(4): 980-992.
- [15] 丁艳萍. 安徽省主要中药材及其产地土壤重金属调查与评价[D]. 合肥: 安徽农业大学, 2013.

【责任编辑: 侯丽颖】

欢迎关注《广州中医药大学学报》“微信公众号”



本刊微信公众平台已开通,通过手机个人微信“扫一扫”本刊“微信公众号”二维码并关注,即可进入本刊微信公众平台。通过此手机微信平台,可及时、准确地了解本刊的最新资讯、动态,并能及时查询已投稿件处理状况,检索论文,浏览下载过刊。快来关注我们的公众号吧!

· 《广州中医药大学学报》编辑部 ·