

基于稳定同位素技术的竹节参产地识别研究

张文丽¹, 吴浩², 梅宇晨³, 刘朝霞¹, 何毓敏⁴, 梅志刚^{4,5*}

1. 三峡大学生物与制药学院, 湖北 宜昌 443002

2. 深圳出入境检验检疫局 食品检验检疫技术中心, 广东 深圳 518016

3. 南京大学电子科学与工程学院, 江苏 南京 210023

4. 三峡大学医学院, 湖北 宜昌 443002

5. 湖南中医药大学中西医结合学院, 湖南 长沙 410208

摘要: 目的 利用稳定同位素质谱测定 6 个产区的竹节参 *Panax japonicus* 中碳、氮、氢、氧 4 种同位素比率。方法 采用基于机器学习分类器的线性判别法 (LD), 高斯核支持向量机 (SVM) 和基于神经网络工具箱的模式识别反向传播学习算法 (BPN) 对竹节参的产地进行判别。结果 结果表明, 稳定同位素碳 ($\delta^{13}\text{C}$) 具有明显的地域特征, 可有效地区分竹节参产地; LD 法和 BPN 法均能区分 6 个产地的竹节参, 判定准确率均达 100%。结论 基于稳定同位素技术并结合 LD 和 BPN 法能有效进行竹节参的产地溯源。

关键词: 竹节参; 产地溯源; 稳定同位素; 线性判别分析; 高斯核支持向量机

中图分类号: R286 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2020)23-6070-07

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2020.23.021

Geographical origin discriminant of *Panax japonicus* based on stable isotope ratios analysis

ZHANG Wen-li¹, WU Hao², MEI Yu-chen³, LIU Zhao-xia¹, HE Yu-min⁴, MEI Zhi-gang^{4,5}

1. College of Biology and Pharmacy, China Three Gorges University, Yichang 443002, China

2. Division of Food Inspection and Supervision, Shenzhen Entry-exit Inspection and Quarantine Bureau, Shenzhen 518016, China

3. School of Electronic Science and Engineering, Nanjing University, Nanjing 210023, China

4. Medical College of China Three Gorges University, Yichang 443002, China

5. College of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine, Hunan University of Chinese Medicine, Changsha 410208, China

Abstract: Objective The isotopic ratios of light elements (C/N/H/O) in *Panax japonicus* from six producing areas were determined with isotope ratio mass spectrometry. **Methods** Three methods, including linear discrimination (LD), gaussian kernel support vector machine (SVM), and the back-propagation learning algorithm of pattern recognition based on neural network toolbox (BPN) were employed to establish a model for *P. japonicus* geographical origin discrimination. **Results** The results showed that stable isotope carbon ($\delta^{13}\text{C}$) had obvious regional characteristics, which will be used to effectively distinguish the origin of *P. japonicus*. The methods of LD and BPN could classify the geographical origin of *P. japonicus* from six producing areas, both of which showed that the accuracy rates were 100% using training dataset. **Conclusion** Therefore, the stable isotope technique combined with LD and BPN method can effectively trace the origin of *P. japonicus*.

Key words: *Panax japonicus* C. A. Mey.; geographical origin discriminant; stable isotope; linear discrimination; gaussian kernel support vector machine

竹节参系五加科人参属植物竹节参 *Panax japonicus* C. A. Mey. 的干燥根茎, 又名竹节人参、白三七、竹节三七等, 有滋补强壮、散瘀止痛、止

血生肌等功效^[1], 兼具北药人参和南药三七的功效, 是土家族珍贵的被民间誉为“草药之王”^[2], 其生药主要分布于长江以南, 西起云南、贵州和四川,

收稿日期: 2020-03-09

基金项目: 湖北省宜昌市应用基础研究项目 (A18-302-a12)

作者简介: 张文丽, 博士, 副教授, 主要从事植物生态学研究。E-mail: wendyibcas@163.com

*通信作者 梅志刚, 博士, 教授, 主要从事中医药防治脑病研究。E-mail: zhigangmei@139.com

中至湖北，东至日本^[3]。现代药学研究表明，竹节参内含主要活性成分包括皂苷类、糖类、挥发油、氨基酸等，对调节与改善心脑血管、中枢神经、风湿免疫、消化等系统疾病具有较好疗效^[4]，临床应用前景广阔。由于竹节参对生长环境要求严格，野生资源远远难以满足市场需求。近年来，随着人工栽培技术的突破，竹节参市场需求日趋扩大，在云南、四川和湖北等产区已出现人工种植竹节参，并形成一定的产业规模，其中鄂西恩施、五峰、神农架的竹节参中人参皂苷含量较高，质量上乘^[5]。然而市场上竹节参交易以次充好现象屡见不鲜，故开发竹节参药材产地的溯源技术迫在眉睫。

稳定同位素技术是依据不同生物产地的大气、土壤、水等环境中含有生源要素同位素组成存在差异，且生物体内的同位素受气候、环境和生物代谢类型等因素的影响，导致不同种类及不同地域来源的生物中同位素自然丰度存在差异，通过利用这种差异来区分其可能产区的一种先进技术。该技术因

具有示踪、整合和指示等多项功能，以及检测快速、结果准确等特点，在植物生态学、地球科学、以及食品领域的产地溯源方面广泛应用^[6]，近年来也被频繁报道用于多种名贵中药的产地溯源即中药道地性研究，如人参、五味子、枸杞、冬虫夏草、藏红花、何首乌、石斛等^[7-13]。本研究拟采用稳定同位素分析技术，通过线性判别等分析方法，探讨稳定同位素技术用于竹节参产地识别的可行性，以期为中药材道地性研究体系建设提供参考。

1 材料与仪器

1.1 材料

于 2013 年 4 月—2015 年 10 月共采集 6 个产区，即日本秋田和中国湖北利川、湖北五峰、云南昭通、四川汶川、贵州毕节的竹节参样品 30 份，每个产区样品 5 份。所有样品经三峡大学医学院药学部何毓敏博士鉴定均为五加科人参属植物竹节参 *Panax japonicus* C. A. Mey. 的干燥根茎，经中药粉碎机打粉后过 60 目筛备用。

表 1 竹节参样品信息

Table 1 Geographical origin and environmental conditions of *P. japonicus* samples collection

序号	采样地域	经纬度	海拔/m	年降水量/mm	年平均温度/℃
1	日本秋田	39°43'~140°06'	1 102	1 686.0	15.2
2	中国湖北利川	30°22'~109°08'	1 532	1 704.0	16.8
3	中国湖北五峰	30°12'~110°40'	1 487	1 814.0	11.5
4	中国云南昭通	27°63'~104°05'	1 320	1 185.2	9.8
5	中国四川汶川	30°45'~103°24'	1 953	1 332.0	16.3
6	中国贵州毕节	27°11'~106°03'	1 506	1 005.2	13.8

1.2 仪器

稳定同位素比率质谱仪 (IRIMS): 碳、氮稳定同位素采用 Isoprime 100 (Isoprime, 英国), 氢氧稳定同位素采用 Delta V Advantage (Thermo Fisher, 美国); 高压消解罐 (Thermo Fisher 公司, 美国); 中药粉碎机 ZM100 (Retsch 公司, 德国); 电热烘箱 (北京六一工厂, 中国)。

2 方法

2.1 样品预处理

新鲜竹节参样品，洗净后，风干切片，于 50 ℃ 烘箱低温烘干，用粉碎机粉碎，粉末装入 1 mL 离心管，待测。

2.2 碳 (C)、氮 (N)、氢 (H)、氧 (O) 稳定同位素比率检测

C、N、H、O 稳定同位素比率通过元素分析碳稳定同位素比质谱 (EA-IRMS) 进行检测。

2.2.1 C、N 稳定同位素比率检测 称取约 1 mg 待测样，用锡杯包好后放置于元素分析仪样品盘中，样品中的碳元素和氮元素转化为纯净的 CO₂ 和 N₂ 通过氦气载气流经吸附柱，通过吸附解吸附得到分离纯化，然后进入同位素质谱仪。利用 IAEA-600、IAEA-CH₆ 和 USGS44、USGS45、USGS46 等对标准气体进行校正，在分析过程中，每 8 个样品穿插 1 个实验室标样进行校正；仪器长期标准偏差为 0.02%。分析条件：元素分析仪氦气吹扫流量为 230 mL/min，氧化炉和还原炉温度分别为 1 150、850 ℃，进入质谱仪氦载气流量为 100 mL/min。

2.2.2 H、O 稳定同位素比率检测 称取约 0.5 mg 待测样，用银杯包好后放置于元素分析仪样品盘中。在 1 400 ℃ 高温以及碳环境下将样品中的 H、O 裂解，生成 H₂ 和 CO，利用 He 气流将样品送入色谱柱进行分离，然后进入同位素质谱仪分析气 δD 和

和 $\delta^{18}\text{O}$ 。以 USGS54、USGS55 以及 USGS56 作为标准样对样品进行校正。分析条件：元素分析仪氦气吹扫流量为 200 mL/min，反应管温度分别为 1 400 °C，进入质谱仪氦载气流量为 110 mL/min。稳定同位素比率计算公式（以百分率记）：

$$\delta = (R_{\text{样品}}/R_{\text{标准}}) - 1$$

$R_{\text{样品}}$ ，所测样品中重同位素与轻同位素丰度比，即 $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ 、 $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ 、 $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ 、 D/H ； $R_{\text{标准}}$ ，国际标准样中， $\delta^{15}\text{N}$ 的参照标准为大气， $\delta^{13}\text{C}$ 以国际标准的 V-PDB 为基准， ^{18}O 和 D 以平均海洋水为基准（VSMOW）

2.3 数据分析

Thermo Electron Isodat version 3.0 软件用于同位素值的计算和数据获取；SPSS19.0 软件用于单因素方差分析（One-way ANOVA）；采用 MATLAB R2018a 对数据进行分析。分别用基于神经网络工具箱的模式识别反向传播神经网络（neural pattern recognition）和基于机器学习分类器（classification learner）的线性判别法（linear discriminant）和高斯核支持向量机（SVM）进行算法建模。

3 结果与分析

3.1 轻元素稳定同位素组成的分布

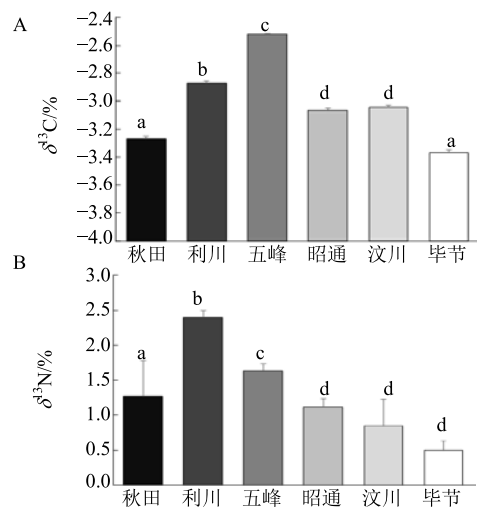
不同产地竹节参的轻元素（C、N、H、O）稳定同位素比值表现出不同的分布趋势（表 2）。不同产地样品的氮同位素比值（ $\delta^{15}\text{N}$ ）变异最大，变异系数达到 51.61%， $\delta^{15}\text{N}$ 幅为 0.330%~2.485%。H 同位素比值（ δD ）和 O 同位素比值（ $\delta^{18}\text{O}$ ）的变异系数次之，分别是 14.49% 和 13.14%； δD 变幅为 -9.101%~-5.806%， $\delta^{18}\text{O}$ 变幅为 1.677%~2.510%。不同产地样品的 C 同位素比值（ $\delta^{13}\text{C}$ ）变异最小，变异系数为 9.29%，变幅为 -3.405%~-2.510%。

3.2 轻元素稳定同位素组成的地域差异

不同产地的竹节参的 $\delta^{13}\text{C}$ 差异显著（图 1-A）， $\delta^{13}\text{C}$ 的平均值由大到小的地区顺序为中国湖北五

峰>中国湖北利川>中国四川汶川>中国云南昭通>日本秋田>中国贵州毕节，且相邻地区之间存在显著性差异（各 $P<0.05$ ），表明 $\delta^{13}\text{C}$ 是竹节参产地识别的重要指标。 $\delta^{15}\text{N}$ 的变化范围最大，其中利川的 $\delta^{15}\text{N}$ 均值最高，五峰次之，秋田再次之；昭通和汶川之间、汶川和毕节之间的 $\delta^{15}\text{N}$ 差异不显著（各 $P>0.05$ ），但均显著低于利川、五峰和秋田（图 1-B）（各 $P<0.05$ ）。 δD 值变化范围较大，其中五峰和毕节 δD 值较高，但两者之间无显著性差异（ $P>0.05$ ），而与其他各地区值差异显著（各 $P<0.05$ ），昭通 δD 值最低，相较于其他各地区具有显著性差异（各 $P<0.05$ ）；利川、汶川和秋田 δD 值无显著差异（图 2-A）。五峰的 $\delta^{18}\text{O}$ 均值最高，其次是利川，秋田再次之，且均显著高于昭通、汶川和毕节（各 $P<0.05$ ），而昭通、汶川和毕节的 $\delta^{18}\text{O}$ 无显著差异（各 $P>0.05$ ）（图 2-B）。上述结果表明， $\delta^{13}\text{C}$ 、 $\delta^{15}\text{N}$ 和 $\delta^{18}\text{O}$ 可作为竹节参产地识别的重要指标，能分别单独区别某几个地域的竹节参产地，但均不能作为全部 6 个地域竹节参独立的区分产地指标。

对不同产地竹节参进行 C、N 稳定性同位素组合（图 3-A），结果显示，中国湖北五峰、中国湖北利川、日本秋田和中国贵州毕节的竹节参可形成明显的分类组团，实现有效的地域区分；而中国四川汶川和中国云南昭通的样品之间有聚集，不能实现良好的区分。



不同字母表示差异显著， $P<0.05$

Different letters indicate significant differences, $P<0.05$

图 1 不同产地竹节参 C (A)、N (B) 稳定性同位素比率

Fig. 1 Isotopic ratios of light elements C (A) and N (B) in *P. japonicus* from different regions

表 2 不同产地竹节参的轻元素（C、N、H、O）稳定性同位素比值分布

Table 2 Distribution of isotopic ratios of light element (C, N, H, O) in *P. japonicus* from different regions

同位素	最大值	最小值	中位值	平均值	标准差	变异系数/%
$\delta^{13}\text{C}$	-2.510	-3.405	-3.057	-3.022	0.281	9.29
$\delta^{15}\text{N}$	2.485	0.330	1.116	1.293	0.667	51.61
δD	-5.806	-9.101	-7.544	-7.381	1.069	14.49
$\delta^{18}\text{O}$	2.510	1.677	1.907	2.011	0.264	13.14

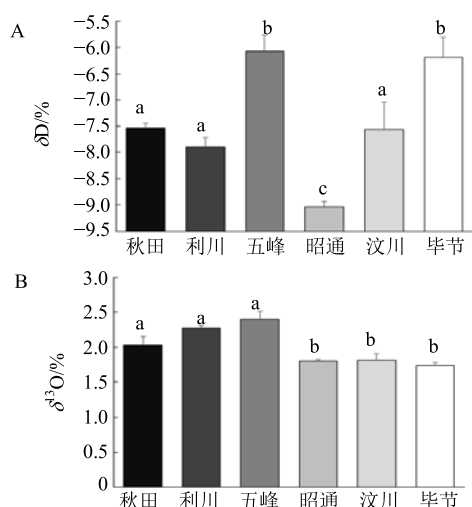


图 2 不同产地竹节参 H (A)、O (B) 稳定性同位素比率
Fig. 2 Isotopic ratios of light elements H (A) and O (B) in *P. japonicus* from different regions

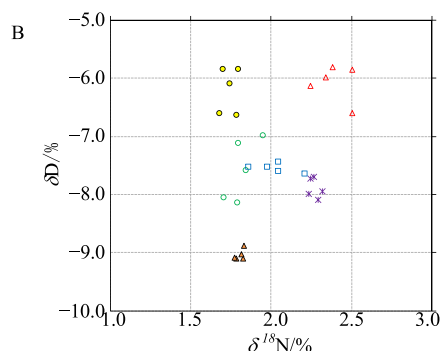
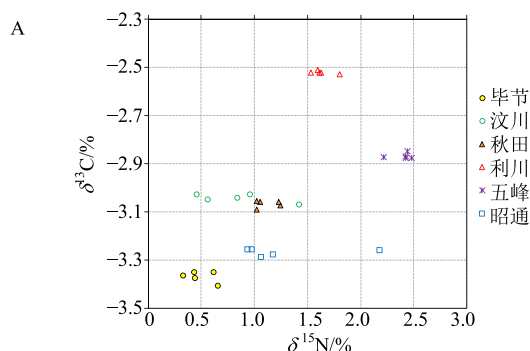


图 3 不同产地竹节参碳氮稳定性同位素组合 (A) 和氢氧稳定性同位素组合 (B) 的变异性
Fig. 3 Variability of combined C and N stable isotope ratios (A) and combined H and O stable isotope ratios (B) in *P. japonicus* from different regions

$$Y(\text{利川}) = -20\,586.92 - 143.2\, \delta^{15}\text{N} - 1\,3765.6\, \delta^{13}\text{C} + 963.9\, \delta^{18}\text{O} + 21.7\, \delta\text{D}$$

$$Y(\text{五峰}) = -16\,326.51 - 136.6\, \delta^{15}\text{N} - 1\,2238.4\, \delta^{13}\text{C} + 912.7\, \delta^{18}\text{O} + 27.2\, \delta\text{D}$$

$$Y(\text{昭通}) = -23\,132.65 - 167.1\, \delta^{15}\text{N} - 1\,4643.8\, \delta^{13}\text{C} + 946.0\, \delta^{18}\text{O} + 19.6\, \delta\text{D}$$

$$Y(\text{汶川}) = -22\,876.67 - 170.2\, \delta^{15}\text{N} - 1\,4606.4\, \delta^{13}\text{C} + 939.7\, \delta^{18}\text{O} + 34.9\, \delta\text{D}$$

$$Y(\text{毕节}) = -27\,934.52 - 192.9\, \delta^{15}\text{N} - 1\,6222.4\, \delta^{13}\text{C} + 991.7\, \delta^{18}\text{O} + 63.9\, \delta\text{D}$$

LD 对 6 个产地竹节参溯源判别的结果如图 4 和表 3, 表明利用轻元素 (C、N、H、O) 稳定同位素比数据进行 LD 分析, 6 个竹节参产地检测准确率均达 100%。

3.3.2 支持向量机 (support vector machine, SVM) SVM 是一种监督学习类分类器, 其决策边界为求解

对不同产地竹节参进行 H、O 稳定性同位素组合 (图 3-B), 结果显示, 中国湖北五峰、中国贵州毕节和中国云南昭通产地的竹节参可形成明显的分类组团, 达到有效的地域区分; 而中国四川汶川、中国湖北利川和日本秋田的样品之间有聚集, 不能有效区分产地。

3.3 判别分析

3.3.1 线性判别分析 (linear discriminant, LD) LD 是将高维的样本投影到最佳鉴别矢量空间, 来达到抽取分类信息和压缩特征空间维数的效果, 投影后保证样本在新的子空间有最大的类间距离和最小的类内距离, 使得各类样品能够更好地区分, 然后再根据样本到每个类中心点的距离远近判定将其归于哪一个类别。LD 判别模型如下:

$$Y(\text{秋田}) = -26\,389 - 178.8\, \delta^{15}\text{N} - 1\,5697.1\, \delta^{13}\text{C} + 1015.2\, \delta^{18}\text{O} + 43.4\, \delta\text{D}$$



图 4 线性判别分析的混淆矩阵图

Fig. 4 Confusion matrix of linear discriminant analysis

学习样本的最大边距超平面。此处采用高斯核函数的非线性 SVM 分类方法, 将特征量从原始的特征空间映射至更高位的希尔伯特空间, 从而转化为线性可分问题。它在解决小样本、非线性及高维模式识别中有诸多特有优势。SVM 对 6 个产地竹节参溯

表 3 采用线性判别对 6 个产区竹节参产地溯源的判别结果
Table 3 Discrimination results of geographical origin traceability of *P. japonicus* from six producing areas based on linear discriminant analysis

产地	预测组						判别正确率/%
	秋田	利川	五峰	昭通	汶川	毕节	
秋田	5	0	0	0	0	0	100
利川	0	5	0	0	0	0	100
五峰	0	0	5	0	0	0	100
昭通	0	0	0	5	0	0	100
汶川	0	0	0	0	5	0	100
毕节	0	0	0	0	0	5	100

源判别的结果如图 5 和表 4。表明利用轻元素 (C、N、H、O) 稳定同位素比数据进行 SVM 分析, 日本秋田的样品检验准确率较低, 为 80%; 其余 5 个产地的检验的准确率均达到 100%。

3.3.3 神经网络 神经网络是对人脑神经网络作抽象化处理, 是一种由大量处理单元互联组成的非线性、自适应模型。采用反向传播神经网络模型 (back propagation neural network, BPN), 该模型具有负责模式的分类能力和良好的多维函数映射能力, 以网络误差平方为目标函数, 采用梯度下降法优化损失函数。网络训练采用 2 层神经网络, 以 Sigmoid 激活函数进行网络训练; 同时采用合理的数据集分割方式, 寻找出最佳收敛点, 训练出合理的分类网络。本实验将 30 个样本数据按 17:2:11 例随机分割成训练集、验证集和测试集。模型结果如表 5 和图 6 所示, 表明利用轻元素 (C、N、H、O) 稳定同位素比数据进行反向传播神经网络的训练, 分类网络模型对 6 个产地的检验的准确率均达到 100%。

4 讨论

道地药材形成的实质源于产地及其生态环境因



图 5 支持向量机分析的混淆矩阵图

Fig. 5 Confusion matrix of support vector machine analysis

表 4 支持向量机分析对 6 个产区竹节参产地溯源的分析结果
Table 4 Discrimination results of geographical origin traceability of *P. japonicus* from six producing areas based on support vector machine analysis

产地	预测组						判别正确率/%
	秋田	利川	五峰	昭通	汶川	毕节	
秋田	4	0	0	0	1	0	80
利川	0	5	0	0	0	0	100
五峰	0	0	5	0	0	0	100
昭通	0	0	0	5	0	0	100
汶川	0	0	0	0	5	0	100
毕节	0	0	0	0	0	5	100

表 5 反向传播神经网络模型算法对 6 个产区竹节参产地溯源的分析结果
Table 5 Discrimination results of geographical origin traceability of *P. japonicus* from six producing areas based on back propagation neural network model analysis

产地	预测组						判别正确率/%
	秋田	利川	五峰	昭通	汶川	毕节	
秋田	5	0	0	0	0	0	100
利川	0	5	0	0	0	0	100
五峰	0	0	5	0	0	0	100
昭通	0	0	0	5	0	0	100
汶川	0	0	0	0	5	0	100
毕节	0	0	0	0	0	5	100

素, 解决中药材产地溯源问题已成为中药材道地性研究的关键^[1]。生物体内稳定性同位素组成是物质的自然属性, 跟生物的生长环境密切相关, 能反映生物体所处的环境条件, 区分不同来源的物种。因此, 近年来稳定同位素技术在食品和中药产地溯源中已成功应用^[7-16]。

竹节参是我国中部及西南地区民间常用的珍稀中草药, 以湖北恩施野生竹节参较为上乘, 随着其药用价值的不断挖掘, 加之规范化的人工种植尚未全面开发, 使得一方面竹节参的野生资源日趋减少^[5], 另一方面市场上也屡见以次充好现象, 因此寻求一种可靠的产地识别技术显得尤为重要。稳定碳同位素技术已成为研究植物与产地之间关系最有效的方法之一。由于植物羧化效率的不同, ¹³C 在植物体内迁移速率以及外界环境的不同, 不同植物体内甚至

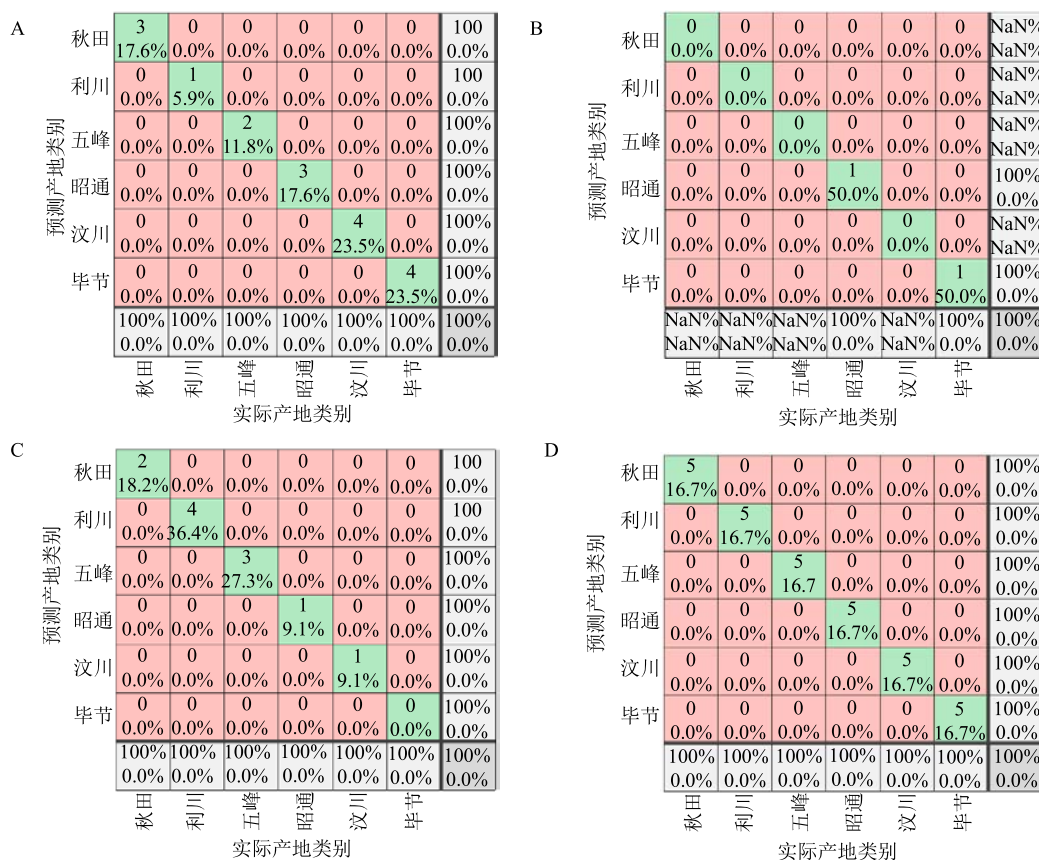


图 6 反向传播神经网络模型分析的训练集 (A)、验证集 (B)、测试集 (C)、全部数据集 (D) 混淆矩阵图
Fig. 6 Confusion matrix of back propagation neural network model analysis of Training set (A), validation set (B), test set (C), all data set (D)

同种植物体内稳定性碳同位素比率 ($\delta^{13}\text{C}$) 会有一定的差异^[14]。 $\delta^{13}\text{C}$ 不仅跟植物的光合途径有关, 还跟植物所处的环境因素如温度、水分等有关^[17-18]。本研究中, 竹节参中 $\delta^{13}\text{C}$ 的范围 (-3.405% ~ -2.510%) 具有 C3 植物典型特征。不同产地竹节参中 $\delta^{13}\text{C}$ 差异显著, 有明显的地域特征, 可有效地区分竹节参产地。如中国贵州毕节和日本秋田的竹节参中 $\delta^{13}\text{C}$ 最低, 可能与当地的平均温度较高有关; 而中国湖北五峰竹节参中 $\delta^{13}\text{C}$ 最高, 则可能与当地的平均温度较低有关。

植物体内氮同位素组成 ($\delta^{15}\text{N}$) 取决于土壤中的氮, 与施肥种类有关。一般来自人类和动物的废物 (有机肥) 的 $\delta^{15}\text{N}$ 值范围为 1.0% ~ 2.0% , 大气氮沉降的 $\delta^{15}\text{N}$ 值范围为 0.2% ~ 0.8% , 而人工化肥的 $\delta^{15}\text{N}$ 值范围为值 -0.3% ~ 0.3% 。本研究中, 中国贵州毕节的竹节参中 $\delta^{15}\text{N}$ 的均值最低, 范围为 0.33% ~ 0.654% , 表明该产地的竹节参要么受到大气氮沉降的强烈影响, 要么有使用人工氮肥的可能; 同时也表明, 其余产地均使用了有机肥。植物中 δD 和 $\delta^{18}\text{O}$ 与其产地纬度有关, 纬度较高其数值较低^[15]。

如日本秋田和中国湖北利川的 δD 和 $\delta^{18}\text{O}$ 比中国贵州毕节的高, 可能跟纬度高有关。

采用不同的判别方法会造成不同的判别准确率, 比如杨健等采用 LD 法判别安徽亳州和四川西昌何首乌的准确率分别为 88.9% 和 81.8% ; 而采用决策树 CHAID 算法建模的准确率分别为 83.3% 和 81.8% ^[11]。因此, 需要增加数据信息量, 采用不同判定方法验证模型的准确性。本实验分别采用 LD、SVM 和 BPN 对 6 个竹节参产地进行判别分析, 发现 LD 和 BPN 能将各地的竹节参有效区分和判别验证。

线性判别分析是根据研究对象的各种特征值 (如本研究中的 4 种轻元素同位素值) 判别其类型归属问题的一种多变量统计分析方法, 是一种监督学习的降维技术^[19]。目前 LD 分析已被广泛应用于电子鼻药性识别、真伪鉴别、人脸识别、图像提取、特征提取、动作识别, 以及中药药性研究等方面^[20]。与 BPN 相比, LD 不需要调整参数, 因而也不存在学习参数和优化权重以及神经元激活函数的选择等问题, 而对模式的归一化或随机化不敏感, 这在基

于梯度下降的各种算法中则显得较为突出; LD 的缺陷是无法预测变量多或者由于变量的多重共线性导致矩阵奇异的系统^[21]。在某些实际情形中, LDA 具有与基于结构风险最小化原理的 SVM 相当, 甚至更优的推广性能, 但其计算效率和判定稳定性则更优于 SVM。BPN 是以神经元的数学模型为基础来描述的, 是一个由网络拓扑、节点特点和学习规则来进行复杂逻辑运算的系统, 具有高度的非线性、非局限性、非定性和非凸性的 4 个基本特征^[22]。目前 BPN 已在药物剂型设计、生产工艺优化、药物缓控释系统研究、生物药剂学、体内/体外相关性研究、药物动力学、临床药学、药物分析与检验、中药鉴定学、中药功效分类、中药药性及中药复方配伍规律研究等方面得到了广泛应用, 且近年来已经逐步被应用于网络药理学领域并取得了阶段性成果^[20,22]。同时 BPN 也存在一定的局限性, 即取样要有一定的广度和均匀性, 否则易出现训练时间过长、过度拟合、不稳定等问题^[22]。

本研究发现利用稳定同位素比率并结合 LD 和 BPN 法, 能有效区分竹节参的产地, 为利用稳定碳同位素技术进行竹节参药材道地性研究和产地溯源提供方法学借鉴。然而, 一个有效的判定方法, 尚需要大量的数据支持, 以确保其具有稳定的准确率^[15]。因此, 本课题组将在后续研究中, 通过增加样本数量、改进判别分析方法以及进一步研究产地生态因子与竹节参内同位素组成关系等来提高本方法的稳定性和精准性。深入研究并提高该分析方法可望为中药材产地溯源研究提供新的有效途径和理论依据, 对竹节参产地溯源和产业发展具有重要意义和应用价值。

参考文献

- [1] 郑菊艳, 邹 坤, 陈 强, 等. 竹节参质量标准研究 [J]. 中药材, 2014, 37(12): 2192-2194.
- [2] 涂 星, 徐新华, 张 燕, 等. 恩施地区濒危野生竹节参生态环境及伴生植物群落特征研究 [J]. 中国中药杂志, 2016, 41(9): 1596-1601.
- [3] 胡远浪, 袁 丁, 何毓敏, 等. 竹节参 HPLC-ELSD 指纹图谱和化学成分分析 [J]. 中国中药杂志, 2010, 35(8): 1009-1013.
- [4] 欧阳丽娜, 向大位, 吴 雪, 等. 竹节参化学成分及药理活性研究进展 [J]. 中草药, 2010, 41(6): 1023-1027.
- [5] 袁 丁, 张长城, 王 婷. 竹节参基础与应用研究 [M]. 北京: 科学出版社, 2015.
- [6] 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.
- [7] Choi S M, Lee H S, Lee G H, *et al.* Determination of the strontium isotope ratio by ICP-MS ginseng as a tracer of regional origin [J]. *Food Chem*, 2008, 108(3): 1149-1154.
- [8] 董星彩, 王颜红, 李国琛, 等. 五味子稳定碳同位素分布特征及其与环境因子的关系 [J]. 生态学杂志, 2010, 29(12): 2353-2357.
- [9] Meng J, Liu Z, Gou C L, *et al.* Geographical origin of Chinese wolfberry (goji) determined by carbon isotope analysis of specific volatile compounds [J]. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*, 2019, 1105: 104-112.
- [10] Guo L X, Xu X M, Hong Y, H, *et al.* Stable carbon isotope composition of the lipids in natural ophiocordyceps sinensis from major habitats in China and its substitutes [J]. *Molecules*, 2017, 22(9): E1567.
- [11] Maggi L, Carmona M, Kelly S D, *et al.* Geographical origin differentiation of saffron spice (*Crocus sativus* L. stigmas) - Preliminary investigation using chemical and multi-element (H, C, N) stable isotope analysis [J]. *Food Chem*, 2011, 128(2): 543-548.
- [12] 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, 2017, 43(13): 2676-2681.
- [13] 杨 健, 吴 浩, 吕朝耕, 等. 基于稳定同位素的铁皮石斛产地识别研究 [J]. 中国中药杂志, 2017, 43(6): 1118-1123.
- [14] 何忠俊, 梁社往, 丁 颖, 等. 三七主根稳定碳同位素组成与生态因子的关系 [J]. 生态环境学报, 2015, 24(4): 561-568.
- [15] 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.
- [16] 公维民, 马丽娜, 王 飞, 等. 我国大米碳氮稳定同位素比率特征及溯源应用 [J]. 农产品质量与安全, 2019(4): 9-12.
- [17] 柴 华, 钟尚志, 崔海莹, 等. 植物呼吸释放 CO₂ 碳同位素变化研究进展 [J]. 生态学报, 2018, 38(8): 2616-2624.
- [18] Farquhar G D, O'Leary M H, Berry J A. On the relationship between carbon isotope discrimination and the intercellular carbon dioxide concentration in leaves [J]. *Funct Plant Biol*, 1982, 9(2): 121.
- [19] 徐珍珍, 史星星. 基于电子鼻技术的LLE+SMA算法对木香的定性鉴别研究 [J]. 中草药, 2019, 50(24): 6114-6119.
- [20] 张玉娇. 基于循证的中药性效数据挖掘方法评价研究 [D]. 南昌: 江西中医药大学, 2019.
- [21] 张新新, 李 雨, 纪玉佳, 等. 主成分-线性判别分析在中药药性识别中的应用 [J]. 山东大学学报: 医学版, 2012, 50(1): 143-146.
- [22] 杨 岩, 肖佳妹, 王 韧, 等. 人工神经网络在中药相关研究领域的应用 [J]. 中草药, 2019, 50(13): 3230-3236.