不同产地阳春砂及其混伪品的微性状鉴定Δ

胡新华[1*]，原文鹏[1#]，王　洁[1]，陈玩珊[1]，王淑红[2]，王燕明[2]（1.深圳市人民医院/暨南大学第二临床医学院/南方科技大学第一附属医院药学部，广东 深圳　518020；2.深圳市药品检验研究院，广东 深圳　518057）

中图分类号　R931.5　　**文献标志码**　A　　**文章编号**　1001-0408（2021）05-0590-05
DOI　10.6039/j.issn.1001-0408.2021.05.14

摘　要　目的：对不同产地阳春砂及其混伪品进行鉴定。方法：采用微性状鉴定方法，得到阳春砂道地产区阳春砂、国内市售阳春砂及其混伪品共9批样品不同部位的微性状特征图；将特征图进行数字化提取，用SPSS 21.0软件进行统计学分析。结果：市售阳春砂*Amomum villosum* Lour.主要来自广东、广西、云南、福建等地；收集到的阳春砂混伪品包括绿壳砂*A. villosum* Lour. var. *xanthioides* T. L.Wu et Senjen、红壳砂仁*A. aurantiacum* H. T. Tsai et S. W. Zhao和豆蔻属的其他砂仁种，分别来自云南西双版纳、老挝、缅甸等地。显微镜下观察到不同产地阳春砂及其混伪品的的外表面微性状特征（如外果皮颜色、皮刺、非腺毛、内果皮颜色、内果皮油点等）差异明显，且果实宽度、内果皮油点直径等微性状特征值的差异有统计学意义（$P<0.05$）。结论：微性状鉴定方法得到的不同产地阳春砂及其混伪品微性状特征图，弥补了传统经验鉴别方法的不足。将微性状特征进行量化，建立阳春砂微性状数据库，可为该药材的性状鉴定和质量控制提供参考。

关键词　微性状；鉴定；阳春砂；混伪品

Identification of Microscopic Characteristics of *Amomum villosum* from Different Habitats and Its Adulterants

HU Xinhua[1], YUAN Wenpeng[1], WANG Jie[1], CHEN Wanshan[1], WANG Shuhong[2], WANG Yanming[2] (1.Dept. of Pharmacy, Shenzhen People's Hospital/the Second Clinical Medical College, Jinan University/the First Affiliated Hospital, Southern University of Science and Technology, Guangdong Shenzhen 518020, China; 2. Shenzhen Institute for Drug Control, Guangdong Shenzhen 518057, China)

ABSTRACT　OBJECTIVE: To identify *Amomum villosum* from different habitats and its adulterants. METHODS: Through the identification methods of microscopic characteristics, microscopic characteristics maps of 9 batches of *A. villosum* from genuine producing areas, domestic commercially available *A. villosum* and its adulterants were obtained. The feature maps were extracted digitally and analyzed by SPSS 21.0 software. RESULTS: Commercially available *A. villosum* was mainly from Guangdong, Guangxi, Yunnan and Fujian; the collected adulterants of *A. villosum* included *A. villosum* Lour. var. xanthioides T.L.Wu et Senjen, *A. aurantiacum* H. T. Tsai et S. W. Zhao and other *A. species* from Yunnan Xishuangbanna, Laos and Myanmar. Under the microscope, it was observed that microscopic characteristics of surface (such as exocarp color, prickle, non-glandular hairs, endocarp color, endocarp oil chamber) of *A. villosum* from different habitats and its adulterants were different. There was statistically significant difference in fruit width values and endocarp oil point diameter among all samples ($P<0.05$). CONCLUSIONS: The microscopic characteristics maps of *A. villosum* from different habitats and its adulterants by the microscopic characteristics identification methods will make up for the deficiency of traditional experience identification. The quantitative analysis of micro-property and the establishment of micro-property database of *A. villosum* can provide reference for the property identification and quality control of this medicinal material.

KEYWORDS　Microscopic characteristics; Identification; *Amomum villosum*; Adulterants

砂仁性温、味辛，具有芳香化湿、开胃温脾、止泻止呕、理气宽中、安胎等功效；现代药理研究还表明，其具有增强胃蠕动、抗胃溃疡、抑菌、消炎、镇静等作用[1-2]，是中医治疗胃肠疾病的常用药[3]。砂仁是中国“四大南药”之一，也是2020年版《中国药典》收载品种，有着1 300多年的应用历史[4]。作为我国传统大宗常用药材，砂仁每年的市场需求量估计超过2.2×10^6 kg[5]。砂仁来源于姜科植物阳春砂*Amomum villosum* Lour.、绿壳砂*A. villosum* Lour. var. *xanthioides* T. L. Wu et Senjen或海南砂仁*A. longiligulare* T. L. Wu的干燥成熟果实[6]，其中阳春砂是砂仁的主流品种，且为上品[7]。砂仁的栽培历史考证表明，阳春砂自唐末宋初出现，至1949年以前均产自广东省阳春县（现阳春市），后逐渐引种到阳春县周围

Δ 基金项目：广东省中医药局科研项目（No.20191281）；深圳市医学重点学科（临床重点专科）建设（2020－2024年）项目（No.SZXK059）

* 主管中药师，硕士。研究方向：中药鉴定。电话：0755-22942678。E-mail：huxhsz@163.com

通信作者：主任中药师。研究方向：中药鉴定。电话：0755-22942678。E-mail：yuanwpsz@163.com

及外省市（如广西、云南等地）[8]。市场上常有用砂仁的其他来源品种甚至伪品冒充阳春砂进行销售的现象。

微性状鉴定法是借助仪器观察药材及饮片表面，包括断面上肉眼不易察觉的细微性状特征，通过数码视频技术拍摄得到景深合成的清晰图像，并基于这些微观性状特征对药材及饮片的品种与质量进行鉴别分析[9]。该方法是性状鉴定法向着微观领域的延伸[10]，可弥补传统鉴定方法的不足。本试验采用微性状鉴定法，通过显微仪器结合电脑软件，采集不同产地阳春砂及其混伪品的表面性状信息，总结其微性状鉴定特征[11－12]，据此得到其微性状特征的数字化结果，从而为鉴定区分不同产地的阳春砂及其混伪品提供参考。

1 材料

1.1 主要仪器

本研究所用的主要仪器有：DVM6型数码视频显微镜、Plan APO FOV 43.75 mm物镜、LAS X景深合成分析软件（德国Leican公司）、CB160型电加热板（英国Stuart公司）。

1.2 药材

9份阳春砂及其混伪品样品分别于2019年12月－2020年3月收集于安徽亳州中药材交易中心、成都荷花池中药材专业市场和广东省阳春市阳春砂种植基地，由深圳市药品检验所王淑红主任中药师、广东省中医院黄志海主任中药师2位专家进行鉴定。样品产地信息及鉴定结果见表1。

表1 样品产地信息及鉴定结果

Tab 1 Results of sample origin information and identification

样品编号	产地	鉴定结果	备注
S1	广西靖西	阳春砂*A. villosum* Lour.	正品
S2	福建南平	阳春砂*A. villosum* Lour.	正品
S3	广东阳春	阳春砂*A. villosum* Lour.	正品
S4	云南普洱	阳春砂*A. villosum* Lour.	正品
S5	广西武鸣	阳春砂*A. villosum* Lour.	正品
S6	老挝	未知品种	伪品
S7	老挝	红壳砂仁*A. aurantiacum* H. T. Tsai et S. W. Zhao	伪品
S8	云南西双版纳	绿壳砂*A. villosum* Lour. var. *xanthioides* T. L. Wu et Senjen	伪品
S9	缅甸	未知品种（豆蔻属非长序砂仁）	伪品

2 方法

2.1 微性状鉴定

2.1.1 药材表面清洁 用软毛刷将样品表面杂质清理干净，注意不要破坏样品外表皮的结构。

2.1.2 药材浸润 将不同来源的样品分别置于烧杯中，再置于50 ℃电加热板上水浴浸润，备用。

2.1.3 药材拍摄及图片合成 将浸润过的样品置于显微镜物镜下，分别在×25倍、×80倍、×160倍、×360倍镜下选择自动对焦模式，每种倍数下拍摄照片10～40张，再使用Las X景深合成分析软件将各样品不同景深的照片进行合成，得到各样品不同部位的微性状特征图及景深合成图。

2.1.4 样品测量 将样品置于显微镜物镜下，在×25倍镜下拍摄样品的全景图，通过Las X景深合成分析软件选择测量尺测量样品的长度和宽度；再在×360倍镜下拍摄样品内果皮的微性状特征图，使用相同方法测量样品内果皮油点直径。

2.2 统计学方法

采用SPSS 21.0统计软件对样品的长度、宽度、内果皮油点直径等数据进行统计学分析，方差齐时选择LSD检验，方差不齐时选择Dunnett *T*3检验[9,13－15]。$P<0.05$为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 微性状特征

通过显微镜观察到不同产地阳春砂及其混伪品的外表面微性状特征差异明显：（1）在显微镜×25倍镜下观察到道地产区广东阳春产阳春砂（编号S3）的外果皮及刺均为紫色，其余产地的阳春砂外果皮为棕色、红棕色或伴有局部紫色；云南西双版纳产绿壳砂（编号S8）的外果皮呈现棕色；老挝产2种阳春砂伪品（编号S6、S7）的外果皮呈现紫色或局部紫色；缅甸产伪品（编号S9）的外果皮呈现棕色。（2）不同产地阳春砂及其混伪品的果实形状为椭圆形、近圆形、长圆锥型、长椭圆形等，且大小不一。除广东阳春产阳春砂（编号S3）果实较紧实，其余样品果实均略松泡。（3）所有样品外表皮刺均呈长刺状；除老挝产红壳砂仁（编号S7）与缅甸产伪品（编号S9）外表皮刺较稀疏以外，其余样品的外表皮刺均较致密。（4）在显微镜×80倍镜下可以清晰看到样品外表皮上附着的非腺毛，且果柄与果蒂处的非腺毛均极为丰富，但果皮上的非腺毛数量依品种而异——广东阳春产阳春砂（编号S3）、云南普洱产阳春砂（编号S4）和老挝产伪品（编号S6）果皮上的非腺毛较丰富；其余样品果皮上的非腺毛稀少。（5）不同产地阳春砂及其混伪品的内果皮颜色有明显差异，呈现棕色、淡黄色、红棕色等不同颜色。（6）在显微镜×360倍镜下可见，除缅甸产伪品（编号S9）的内果皮没有油点外，其余样品的内果皮上有颜色不同的致密油点。不同产地阳春砂及其混伪品的微性状特征比较见表2；其全果实、非腺毛、内果皮及油室的微性状特征图分别见图1～图3。

3.2 统计学分析结果

9批样品的长度、宽度和内果皮油点直径的测定结果见表3。经Dunnett *T*3检验，不同产地阳春砂及其混伪品的长度比较，差异无统计学意义（$P>0.05$）；但道地产区广东阳春产阳春砂（编号S3）与其他产地阳春砂（编

表2　不同产地阳春砂及其混伪品的微性状特征比较

Tab 2　Comparison of microscopic characteristics of *A. villosum* from different habitats and its adulterants

样品编号	外果皮颜色	皮刺	非腺毛	内果皮颜色	内果皮油点
S1	红棕色	红棕色,长刺状,致密	果柄、果蒂两端丰富,果皮上稀少	淡黄色	淡黄色,致密
S2	淡紫色	淡红棕色、淡紫色,长刺状,致密	果柄、果蒂两端丰富,果皮上稀少	淡黄白色	淡黄色,致密
S3	紫色	紫色,长刺状,致密	果柄、果蒂两端丰富,果皮上较丰富	红棕色	红棕色,致密
S4	淡红棕色	紫色,长刺状,致密	果柄、果蒂两端丰富,果皮上较丰富	淡黄色	红棕色,致密
S5	棕色	黄色,局部紫色,长刺状,致密	果柄、果蒂两端丰富,果皮上稀少	黄棕色	黄色,致密
S6(伪品)	棕色	黄色,紫色,长刺状,致密	果柄、果蒂两端丰富,果皮上较丰富	棕色	棕色,致密
S7(伪品)	紫色	紫色,长刺状,稀疏	果柄、果蒂两端丰富,果皮上稀少	棕色	棕色,致密
S8(伪品)	棕色	棕色,紫色,长刺状,致密	果柄、果蒂两端丰富,果皮上稀少	棕色	红棕色,致密
S9(伪品)	棕色	棕色,长刺状,较稀疏	果柄、果蒂两端丰富,果皮上稀少	淡黄色	无

号S1、S2、S4、S5)的宽度比较,差异有统计学意义($P<0.05$)。

经LSD检验,广东阳春产阳春砂(编号S3)、云南普洱产阳春砂(编号S4)和老挝产红壳砂仁(编号S7)的内果皮油点直径均显著大于广西靖西产阳春砂(编号S1)、福建产阳春砂(编号S2)、老挝产未知品种伪品(编号S6)和云南西双版纳产绿壳砂(编号S8),差异均有统计学意义($P<0.05$)。

以上统计结果表明,虽然样品长度无差异,但从样品宽度和内果皮油点直径,结合前述微性状特征可以区分不同产地阳春砂及其混伪品。

4　讨论

目前对阳春砂及其混伪品的鉴定方法研究多见于基源鉴定[16]、性状鉴定、显微鉴定和理化鉴定。其中,原植物(动物)鉴定是基源鉴定最基础的方法,需要回溯到药材的产地,观察形态、核对文献、核对标本,必要时需要由专科专属分类学家进行鉴定;性状鉴定仍是目前基层单位鉴定中药饮片真伪优劣和是否掺有杂质的检验与检测手段,但其传统的眼观、手摸、鼻闻、口尝等方法需要鉴定者具有长期丰富的经验,且鉴定标准通常没有确切的定量描述,因此在鉴别易混淆饮片时有较大的局限性;显微鉴定和理化鉴定是专业性、技术性较强的鉴定方法,需要有植物解剖、显微切片、植物显微、理化鉴定知识,方法操作起来有一定的复杂性,基层单位难以普及。中药微性状鉴定法是近年来兴起的以植物学界微形态学研究为理论基础的方法,操作简单而迅速,基层的药监药检人员容易掌握,且检测设备成本较低,是切实可用的中药快检法[17]。

本试验收集了来自国内外药材市场和砂仁种植基地的9份样品,产地分别为广东阳春,福建南平,云南普洱、西双版纳,广西靖西、武鸣以及老挝、缅甸等地。经过性状鉴定,采集样品分别为阳春砂*A. villosum* Lour.、红壳砂仁*A. aurantiacum* H. T. Tsai et S. W. Zhao、绿壳砂*A. villosum* Lour. var. *xanthioides* T. L. Wu et Senjen以及豆蔻属某砂仁品种。在显微镜下观察到不同产地阳春砂及其混伪品的外表面微性状特征差异明显,考虑应受不同种属因素的影响最大;其次为种植环境(如气候、温度、湿度、阳光照射、土壤成分含量等因素)影响。除此以外,阳春砂表面颜色的差异有可能还受到干燥方法等的影响——不同的干燥方法、加热温度、光照强度等均可能使果实外表面颜色发生变化,产生褪色、变色等现象。

样品微性状量化值的统计学分析结果显示,道地产区广东阳春所产阳春砂的宽度值较小,与其他产地阳春砂的宽度比较,差异均有统计学意义($P<0.05$)。该结果也量化了传统性状鉴别中描述的"阳春产阳春砂果实较紧实,其他产地阳春砂果实较松泡"这一结论[18],使鉴定标准更具体直观。

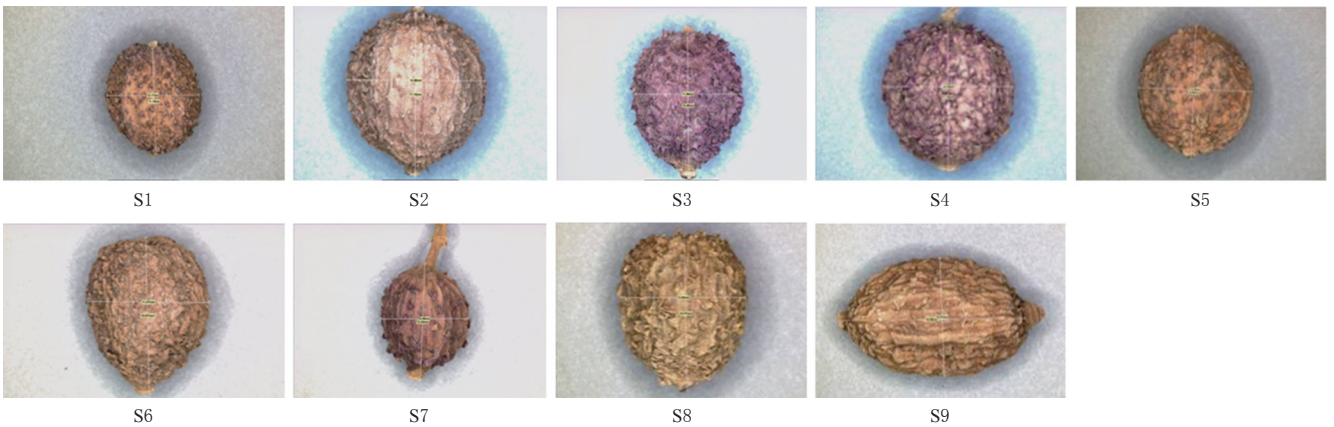


图1　不同产地阳春砂及其混伪品全果实的微性状特征图(×25)

Fig 1　Microscopic characteristics maps of overall fruit of *A. villosum* from different habitats and its adulterants(×25)



注：a.果柄处；b.果蒂处

Note：a. fruit stalk；b. peduncle

图2　不同产地阳春砂及其混伪品非腺毛的微性状特征图（×80）

Fig 2　Microscopic characteristics maps of non-glandular hair of *A. villosum* from different habitats and its adulterants（×80）

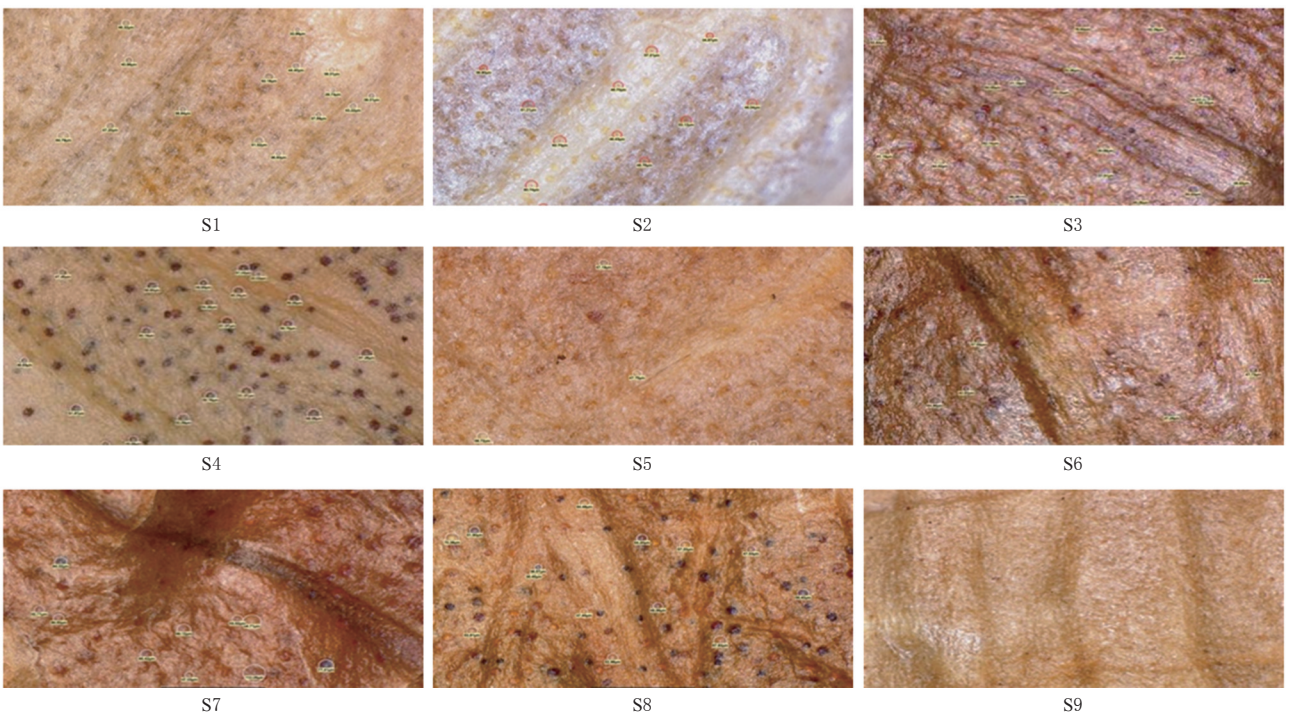


图3　不同产地阳春砂及其混伪品内果皮及油室的微性状特征图（×360）

Fig 3　Microscopic characteristics maps of endocarp and oil chamber of *A. villosum* from different habitats and its adulterants（×360）

表3　不同产地阳春砂及其混伪品的长度、宽度和内果皮油点直径测定结果（$\bar{x}\pm s$，$n=12$）

Tab 3　Fruit length, width and endocarp oil point diameter of *A. villosum* from different habitats and its adulterants（$\bar{x}\pm s$，$n=12$）

样品编号	长度，mm	宽度，mm	内果皮油点直径，μm
S1	16.08±1.40	12.12±0.47*	43.95±2.62*#△
S2	14.35±1.10	12.41±0.74*	50.96±2.50*#△
S3	14.69±0.53	10.61±0.59	60.20±2.72
S4	15.33±1.15	13.50±0.34*	56.67±2.42
S5	15.61±0.99	12.82±0.73*	53.05±6.42
S6（伪品）	15.48±0.62	10.77±0.47	50.36±3.74*#△
S7（伪品）	12.89±0.58	10.35±0.27	60.72±3.54
S8（伪品）	15.13±1.11	11.44±0.48	50.38±2.76*#△
S9（伪品）	16.95±1.71	10.25±0.50	无油点

注：与S3比较，*$P<0.05$；与S4比较，#$P<0.05$；与S7比较，△$P<0.05$

Note：vs. S3，*$P<0.05$；vs. S4，#$P<0.05$；vs. S7，△$P<0.05$

综上所述，本试验采用微性状鉴定法，不仅拍摄采集到不同产地阳春砂及其混伪品的表面微性状信息，还尝试将微性状信息进行量化，建立阳春砂微性状数据库。微性状鉴定方法得到的不同产地阳春砂及其混伪品微性状特征图，弥补了传统经验鉴别方法的不足。将样品微性状特征进行数字化提取，并进行统计学分析，结果显示不同产地阳春砂及其混伪品的微性状特征值（果实宽度和内果皮油室直径）的差异具有统计学意义（$P<0.05$）。本课题组后期将进一步增加试验样品量，继续完善阳春砂微性状鉴定的信息，补充阳春砂微性状数据库，为阳春砂的性状鉴定和质量控制提供参考方法和依据。

参考文献

[1] 陆山红，赵荣华，幺晨，等.砂仁的化学及药理研究进展[J].中药药理与临床，2016，32(1)：227-230.

[2] 李丽丽，田文仓，刘茵，等.砂仁中化学成分及其药理作用的研究进展[J].现代生物医学进展，2018，18(22)：4390-4396.

[3] 曹羽，龚航军，韩刚，等.砂仁促进胃术后胃肠功能恢复的临床研究[J].现代中西医结合杂志，2019，28(1)：19-22、62.

[4] 甄权.药性论[M].尚志钧，辑校.北京：人民卫生出版社，1997：69.

[5] 汤丽云，何国振，苏景，等.道地春砂仁产业发展的策略研究[J].中国农学通报，2012，28(8)：94-99.

[6] 国家药典委员会.中华人民共和国药典：一部[S]. 2020年版.北京：中国医药科技出版社，2020：264.

[7] 李明晓.道地产区阳春砂优良种质的筛选研究[D].广州：广州中医药大学，2019.

[8] 邹晓红.基于外观性状数据化、成分分析及药效学的砂仁品质评价研究[D].广州：广州中医药大学，2018.

[9] 周建理，杨青山.中药微性状鉴定法[J].安徽中医学院学报，2011，30(1)：66-68.

[10] 杨喆，谭志军，张杨，等.医学研究中计量资料组间比较统计分析方法的正确应用[J].中国儿童保健杂志，2019，27(10)：1157-1160.

[11] 鞠康，胡云飞，王德胜，等.微性状鉴别法在中药检验中应用研究进展[J].中成药，2019，41(2)：411-415.

[12] 马逾英，卢晓琳，翟萌，等.几种中药材及其混伪品的微性状对比鉴别[J].中国中药杂志，2012，37(8)：1161-1164.

[13] WU MH，ZHANG W，GUO P，et al. Identification of seven Zingiberaceous species based on comparative anatomy of microscopic characteristics of seeds[J]. Chin Med，2014，9(1)：10.

[14] ROSTAMI R，KHADIVI A，BIKDELOO M. Morphological and pomological characterizations of male and female genotypes of Pistacia atlantica Desf. subsp. mutica[J/OL]. Euphytica，2020[2021-02-01].https://link.springer.com/article/10.1007/s10681-020-02658-y. DOI：10.1007/s10681-020-02658-y.

[15] 雷建刚，刘敦华，郭进.不同产地枸杞干果品质的差异性研究[J].现代食品科技，2013，29(3)：494-497、522.

[16] WOŹNICKA A，MELOSIK I，MOROZOWSKA M. Quantitative and qualitative differences in morphological traits of endocarps revealed between Cornus L. species[J]. Plant Syst Evol，2015，301：291-308.

[17] 陈彩英，詹若挺，王小平.砂仁品种、种质资源的考证溯源[J].山东中医药大学学报，2011，35(4)：354-357、376.

[18] 丁平，方琴，张丹雁.云南引种阳春砂与阳春砂药理活性对比研究[J].中国药学杂志，2004，39(5)：342-344.

（收稿日期：2020-10-08　修回日期：2021-02-09）

（编辑：胡晓霖）

《中国药房》杂志——RCCSE中国核心学术期刊，欢迎投稿、订阅