

DOI: 10.19812/j.cnki.jfsq11-5956/ts.20240412004

基于超微消解结合电感耦合等离子体质谱法的核桃产地溯源

彭涛¹, 孙雪², 史立学³, 王行智¹, 陈婷¹, 朱仁愿¹,
张婕¹, 吴振^{4*}, 张菁菁¹, 白雪¹, 贾汝玲¹

[1. 兰州市食品药品检验检测研究院, 甘肃省种植中药材外源性污染物监测工程研究中心, 兰州 730050;
2. 斯坦德科创医药科技(青岛)有限公司, 青岛 266000; 3. 天水市食品检验检测中心, 天水 741000;
4. 宁波大学食品科学与工程学院, 宁波 315000]

摘要: **目的** 探究 6 种产地来源核桃中 20 种矿物质元素与种植区域的相关性, 实现产地溯源。**方法** 样品经超微消解仪处理后, 利用电感耦合等离子体质谱仪测定 20 种矿物质元素含量, 对数据进行主成分分析, 筛选出特征元素, 并对特征元素与种植区域的相关性进行系统聚类分析。**结果** 核桃样品中 20 种矿物质元素检测方法的线性关系良好, 相关系数大于 0.99, 检出限为 0~24.23 $\mu\text{g/L}$, 该方法的精密度、稳定性的相对标准偏差均小于 7.4%, 样品加标回收率为 80.4%~119.3%、相对标准偏差为 2.1%~7.9% ($n=3$)。6 种产地来源核桃样品中, 常量元素由高到低是 K、Mg、Ca, 大部分样品微量元素含量由高到低为 Mn、Fe、Zn、Cu。主成分分析确定 Na、Sr、Mn、Cu、Rb、Ni、Zn、Al 和 Cs 9 种元素为甘肃徽县、陕西商南县、四川盐边县、云南漾濞县、新疆喀什及阿克苏地区共 36 批核桃中矿物质元素的特征成分。**结论** 主成分分析和特征元素分析发现不同产区核桃元素含量的差异较大, 本研究可以应用在核桃产地鉴定中, 为核桃的产地溯源体系建设提供参考和技术支持。

关键词: 电感耦合等离子体质谱法; 矿物质元素; 主成分分析; 特征元素; 聚类分析

Traceability of the origin of walnut based on ultra-microlysis combined with inductively coupled plasma mass spectrometry

PENG Tao¹, SUN Xue², SHI Li-Xue³, WANG Xing-Zhi¹, CHEN Ting¹,
ZHU Ren-Yuan¹, ZHANG Jie¹, WU Zhen^{4*}, ZHANG Jing-Jing¹, BAI Xue¹, JIA Ru-Ling¹

(1. Lanzhou Institute of Food and Drug Inspection and Testing, Gansu Engineering Research Center for Monitoring Exogenous Harmful Residues in Traditional Chinese Medicines, Lanzhou 730050, China; 2. Qingdao STD Standard Testing Co., Ltd., Qingdao 266000, China; 3. Tianshui Food Inspection and Testing Center, Tianshui 741000, China;
4. College of Food Science and Engineering, Ningbo University, Ningbo 315000, China)

基金项目: 甘肃省市场监督管理局科研项目(SSCJG-SP-A202307)、兰州市科技发展指导性计划项目(2023-ZD-233)、国家市场监督管理总局科技计划项目(2023MK120)

Fund: Supported by the Research Project of Gansu Provincial Market Supervision and Administration Bureau (SSCJG-SP-A202307), the Lanzhou Science and Technology Development Guidance Plan Project (2023-DZ-233), and the Science and Technology Plan Project of the State Administration of Market Supervision and Administration (2023MK120)

***通信作者:** 吴振, 博士, 教授, 博士生导师, 主要研究方向为食品加工与技术。E-mail: woods@163.com

***Corresponding author:** WU Zhen, Ph.D, Professor, College of Food Science and Engineering, Ningbo University, Ningbo 315000, China. E-mail: woods@163.com

ABSTRACT: Objective To explore the correlation between 20 kinds of mineral elements and planting areas of the source of 6 kinds of origin sources to achieve traceability of origin. **Methods** After the samples were processed by the ultrafine digester, the contents of 20 kinds of mineral elements were determined by the inductively coupled plasma mass spectrometer. Principal component analysis was performed on the data, and the characteristic elements were screened out. The correlation between characteristic elements and planting areas was analyzed by systematic clustering. **Results** The linear relationship of 20 kinds of mineral elements in walnut samples were good, the correlation coefficients were greater than 0.99, and the limits of detection were 0–24.23 $\mu\text{g/L}$. The relative standard deviations of precision and stability of the method were all less than 7.4%. The recoveries were 80.4%–119.3% and the relative standard deviations were 2.1%–7.9% ($n=3$). Among the 6 kinds of walnut samples from different origins, the major elements from high to low are K, Mg, and Ca, while the majority of the samples had trace element content from high to low of Mn, Fe, Zn, and Cu. Principal component analysis identified 9 kinds of elements, namely Na, Sr, Mn, Cu, Rb, Ni, Zn, Al, and Cs, as characteristic components of mineral elements in 36 batches of walnuts from Huixian County, Gansu Province, Shangnan County, Shaanxi Province, Yanbian County, Sichuan Province, Yangbi County, Yunnan Province, Xinjiang Kashgar and Aksu. **Conclusion** The main component analysis and characteristic element analysis found that the content of walnut elements in different production areas is large. This study can be applied in the identification of walnuts, providing reference and technical support for the construction of the traceability system of walnuts.

KEY WORDS: inductively coupled plasma mass spectrometry; mineral elements; main component analysis; feature elements; cluster analysis

0 引言

核桃是重要的经济作物,栽培历史悠久,广泛分布于全世界各地,我国栽培面积约 807.63 万 hm^2 ,核桃产量居世界第一^[1]。核桃含有丰富的不饱和脂肪酸,蛋白质含量 15%~18%^[2],还有人体必需的维生素、黄酮、微量元素、大量元素^[3-4]等。由于核桃营养丰富^[4-6],食、药用兼优,易于消化吸收,具有健脑益智、健胃补血和润肺养神、降低胆固醇的功效,并且在预防各类疾病方面均有良好效果^[6-8]。

核桃中矿物质和脂肪酸是决定核桃营养品质的关键因素,其矿物质元素组成丰富,受气候地理环境等多种因素的影响。韩永翔^[9]、何国庆等^[10]研究了不同地区栽种核桃的不同品种,矿质元素如钙(Ca)、磷(P)、钾(K)、钠(Na)、镁(Mg)、铜(Cu)、铁(Fe)、锌(Zn)、锰(Mn)等的含量存在一定差异。还有研究对新疆不同品种的核桃进行了分析,发现不同品种核桃仁的氨基酸和微量元素含量的差异显著^[11-13]。有学者基于近红外、中红外光谱和矿质元素含量差异建立了对新疆和田、喀什和阿克苏核桃 3 个产地核桃的产地溯源模型,模型整体正确率为 89.7%^[14]。张琦等^[15]对汾阳市 13 个核桃品种外观品质和矿质元素含量差异进行了调查评价,发现核桃不同品种间的各矿质养分含量有差异。不同产区

的核桃营养元素差异很大,导致其品质参差不齐,一些不法商家以次充好,尤其核桃外形存在相似性的产区,这严重损害了消费者的利益,也对产品品牌和声誉造成了负面影响,目前名优质优农产品主要依赖原产地进行保护,因此,开展核桃的产地溯源十分重要,对于核桃产品的产业健康发展、品牌保护以及产品的安全监管及品质提升具有重要的意义。

我国西部地区气候多变、地貌复杂、矿产丰富,造就了核桃的多样性,基于矿质元素进行核桃品种及产地的鉴定具有明显优势。本研究拟利用电感耦合等离子体串联质谱法(inductively coupled plasma-tandem mass spectrometry, ICP-MS/MS)^[16-19]分析核桃中矿物质元素,以甘肃徽县、陕西商南县、四川盐边县、云南漾濞县、新疆喀什地区的核桃和新疆阿克苏地区的红皮核桃为研究对象,依据 GB 5009.268—2016《食品安全国家标准食品中多元素的测定》中待测元素推荐及相关文献^[20-23],选择 Na、Mg、铝(Al)、K、Ca、钒(V)、铬(Cr)、Mn、Fe、钴(Co)、镍(Ni)、Cu、Zn、镓(Ga)、硒(Se)、铷(Rb)、锶(Sr)、银(Ag)、铯(Cs)、钡(Ba)等 20 种矿物质元素进行分析测定,结合主成分分析(principal component analysis, PCA)和聚类分析^[24-26],探讨不同产地核桃中各元素之间的差异,以为核桃的溯源建模和产地鉴定和溯源提供参考和技术支持依据。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

分别采购甘肃徽县核桃、陕西商南县核桃、四川盐边县核桃、云南漾濞县核桃、新疆喀什地区核桃、新疆阿克苏地区红皮核桃各 6 批, 外观如图 1, 具体来源与编号如表 1, 共计 36 批核桃样品。

仪器调谐液(批号 33-156GSX2, 美国安捷伦科技有限公司); 65%硝酸(德国默克公司); Li、Be、Na、Mg、Al、K、Ca、V、Cr、Mn、Fe、Co、Ni、Cu、Zn、Ga、As、Se、Rb、Sr、Ag、Cd、Cs、Ba、Tl、Pb、U 27 种元素混合标准溶液(10 µg/mL)、Sc、Ce、Tb、Lu、Rh、In、Bi 内标溶液(100 µg/mL)(美国安捷伦科技有限公司)。

1.2 仪器与设备

ULtraCLAVELV 微波消解仪(意大利迈尔斯通有限公司); ICP-MS/MS 8900 质谱仪(美国安捷伦科技有限公司); XSE205DU 十万分之一电子分析天平(美国梅特勒托利多科技有限公司); Milli-Q IQ 7000 超纯水系统(德国默克密理博公司)。

1.3 实验方法

1.3.1 供试品溶液的制备

(1)样品制备

36 批核桃经过筛选, 去壳, 去杂质, 于 105℃烘箱中干燥, 经测定符合 GB/T 20398—2021《核桃坚果质量等级》普通核桃仁含水率≤5.0%的要求。核桃仁干样品经粉碎混匀后作为核桃样品, 待称样测定。



图1 核桃样品图片
Fig.1 Walnut sample pictures

表 1 核桃来源及编号信息
Table 1 Walnut sources and number informations

核桃来源	样品编号
甘肃徽县(ht 1)	ht 1-1
	ht 1-2
	ht 1-3
	ht 1-4
	ht 1-5
	ht 1-6
陕西商南县(ht 2)	ht 2-1
	ht 2-2
	ht 2-3
	ht 2-4
	ht 2-5
	ht 2-6
四川盐边县(ht 3)	ht 3-1
	ht 3-2
	ht 3-3
	ht 3-4
	ht 3-5
	ht 3-6
云南漾濞县(ht 4)	ht 4-1
	ht 4-2
	ht 4-3
	ht 4-4
	ht 4-5
	ht 4-6
新疆喀什地区(ht 5)	ht 5-1
	ht 5-2
	ht 5-3
	ht 5-4
	ht 5-5
	ht 5-6
新疆阿克苏地区(ht 6)	ht 6-1
	ht 6-2
	ht 6-3
	ht 6-4
	ht 6-5
	ht 6-6

(2)待测溶液的制备

分别称取上述 36 个核桃样品 0.2 g, 每个样品精密称定 3 份, 于微波消解罐中, 依次加入 3.0 mL 65%的硝酸溶液, 按照微波消解的操作步骤消解试样。微波消解仪卸压后取出消解罐, 待消解罐放冷后, 将消解液转移至 50 mL 容量瓶中^[27], 用少量超纯水洗涤消解罐 3 次, 合并洗涤液至容量瓶中, 用超纯水定容至刻度, 作为供试品溶液, 用于测定 Na、Mg、Al、K、Ca、V、Cr、Mn、Fe、Co、Ni、Cu、Zn、Ga、Se、Rb、Sr、Ag、Cs、Ba 元素含量, 同时做试剂空白试验。

1.3.2 标准溶液的制备

标准品工作溶液: 精密吸取标准品溶液适量, 用 2%硝酸将 27 种元素的混合标准品溶液稀释并定容至 50 mL 量瓶中, 配制成质量浓度分别为 0、5.0、10.0、20.0、50.0、100.0、200.0、300.0 µg/L 的混合标准品溶液, 4℃避光保存。

内标工作溶液: 精密吸取含 Sc、Ce、Rh、In 的内标溶液 500 µL, 用 2%硝酸定容于 100 mL 量瓶中, 配制成质量浓度均为 500 µg/L 混合内标工作溶液, 4℃避光保存^[27]。

1.3.3 仪器分析

采用 ICP-MS/MS 分别对标准溶液和消解后的供试品

工作溶液进行检测, 每批样品平行测定 3 份。

超级微波消解程序如表 2。

表 2 微波消解程序 Table 2 Microwave digestion conditions			
程序升温时间/min	加热温度/℃	压力/Pa	功率/W
0~10	110	8×10^6	900
10~26	220	1×10^7	1200
26~42	240	1.2×10^7	1200
42~57	240	1.2×10^7	1200

ICP-MS/MS 采用氦气碰撞反应池模式, 全定量分析。仪器点火稳定 30 min 后, 以调谐液优化仪器参数, 包括: 质量轴、分辨率、灵敏度、双电荷和氧化物。仪器工作条件设置如表 3, 载气和等离子体气为氦气(纯度 $\geq 99.999\%$), 碰撞气为氦气(纯度 $\geq 99.999\%$)。

1.4 数据处理

利用 SIMCA 14.1 软件对测定元素含量结果进行主成分分析, 确定元素含量水平与产地区域间的差异, 绘制变量重要性参数(variable information processing, VIP)图, 筛选特征元素, 采用 PASW Statistics 18.0 软件对数据进行聚类分析, 进一步判别不同地区核桃中特征元素与产地区域的相关性。

表 3 ICP-MS/MS 检测条件
Table 3 Detection conditions of ICP-MS/MS

工作参数	设定值	工作参数	设定值
载气流速/(L/min)	1.17	高频发射功率/W	1550
混合气流量/(L/min)	0.28	等离子气流量/(L/min)	15.0
辅助气流量/(L/min)	0.9	氦气流量/(L/min)	5
样品提升速率/(r/s)	0.1	雾化室温度/℃	2
样品提升量/(mL/min)	0.4	测点数	3
采样深度/mm	8.0	分析时间/s	0.01

2 结果与分析

2.1 方法学考查

2.1.1 线性关系

使用 1.3.2 配制好的各系列标准品工作溶液与内标工作溶液, 分别以各元素质量浓度($X, \mu\text{g/L}$)为横坐标, 以样品溶液与内标工作溶液响应值的比值为纵坐标(Y), 分别绘制标准曲线, 得到各元素回归方程相关系数, 见表 4。结果表明, 20 种元素在各自的线性范围内线性关系良好, $r\geq 0.99$, 检出限为 0~24.23 $\mu\text{g/L}$, 灵敏度可满足方法学要求。

表 4 20 种元素的回归方程、线性范围与检出限
Table 4 Regression equations, linear ranges, and limits of detection of 20 kinds of elements

元素	内标元素	线性方程	相关系数	线性范围/($\mu\text{g/L}$)	检出限/($\mu\text{g/L}$)
Na	Sc	$Y=1.225\times10^{-2}X+2.799\times10^{-1}$	0.9978	0~300	4.513
Mg	Sc	$Y=5.406\times10^{-3}X+4.351\times10^{-2}$	0.9999	0~300	1.584
Al	Sc	$Y=1.552\times10^{-3}X+2.174\times10^{-2}$	0.9965	0~300	3.480
K	Sc	$Y=6.530\times10^{-3}X+4.587\times10^{-1}$	0.9981	0~300	24.23
Ca	Sc	$Y=1.289\times10^{-4}X+1.500\times10^{-3}$	0.9993	0~300	10.08
V	Sc	$Y=9.088\times10^{-2}X+9.861\times10^{-4}$	1.0000	0~300	0.005667
Cr	Sc	$Y=1.220\times10^{-1}X+1.065\times10^{-2}$	0.9998	0~300	0.01229
Mn	Sc	$Y=6.461\times10^{-2}X+2.281\times10^{-2}$	0.9999	0~300	0.1255
Fe	Sc	$Y=9.533\times10^{-2}X+7.917\times10^{-1}$	0.9999	0~300	1.269
Co	Sc	$Y=1.666\times10^{-1}X+3.116\times10^{-3}$	0.9999	0~300	0.02207
Ni	Sc	$Y=4.440\times10^{-2}X+6.602\times10^{-3}$	0.9995	0~300	0.03371
Cu	Ce	$Y=1.481\times10^{-1}X+8.981\times10^{-2}$	0.9984	0~300	0.05084
Zn	Ce	$Y=2.679\times10^{-2}X+2.428\times10^{-2}$	0.9999	0~300	0.08080
Ga	Ce	$Y=7.069\times10^{-2}X+3.084\times10^{-3}$	0.9985	0~300	0.01218
Se	Ce	$Y=4.579\times10^{-4}X$	0.9999	0~300	0
Rb	Ce	$Y=8.682\times10^{-3}X+3.009\times10^{-4}$	0.9997	0~300	0.01337
Sr	Ce	$Y=1.092\times10^{-1}X+1.612\times10^{-2}$	0.9999	0~300	0.03532
Ag	Rh	$Y=1.276\times10^{-2}X+5.084\times10^{-4}$	0.9998	0~300	0.01143
Cs	In	$Y=2.587\times10^{-2}X+9.129\times10^{-5}$	0.9998	0~300	0.002994
Ba	In	$Y=4.946\times10^{-3}X+1.193\times10^{-3}$	0.9998	0~300	0.06404

2.1.2 精密度、稳定性实验

取 1.3.2 中 50 $\mu\text{g/L}$ 的混合标准品工作溶液, 连续进样 6 次, 记录各元素信号响应值, 计算相对标准偏差(relative standard deviation, RSD), 结果显示, 20 种元素的 RSD 为 2.1%~5.6% ($n=6$), 表明仪器精密度良好。准确称取 1.3.1 ht 1-1 的样品 0.2 g, 并制备供试品溶液, 于室温下放置 0、2、4、8、12、24 h 分别进样测定, 记录各元素信号响应值并计算 RSD, 结果显示, 20 种元素的 RSD 为 3.6%~7.4% ($n=6$), 表明供试品在 24 h 内稳定性良好。

2.1.3 加标回收率试验

准确称取 1.3.1 ht 1-1 的样品 0.2 g, 共 9 份, 分别精密加入 100.0、500.0、1000.0 $\mu\text{g/L}$ 的 27 种混合标准品工作溶液 1.00 mL, 每个浓度水平添加 3 份, 并制备供试品溶液, 分别进行测定, 记录样品中各元素响应值, 计算加标回收率和 RSD, 见表 5。结果显示, 9 份样品中各元素的平均加标回收率为 80.4%~119.3%、RSD 为 2.1%~7.9% ($n=3$), 表明回收率良好。

2.2 核桃样品测定结果与分析

采用本研究建立的方法, 对甘肃徽县、陕西商南县、

四川盐边县、云南漾濞县、新疆喀什地区、新疆阿克苏地区共 6 种来源的 36 批核桃样品, 经超级微波消解后进行元素分析。对 36 批核桃进行 20 种矿物质元素分析, 对同一来源元素测定结果取平均值, 结果见表 6。

由表 6 可知, 核桃中 K 元素含量最高, 其中云南漾濞县核桃中 K 元素含量高达 3976 mg/kg。6 种来源核桃中 Mg 元素的含量次之。核桃中 Ca 元素也非常丰富, 陕西商南县和新疆喀什地区的核桃中 Ca 含量达到 170 mg/kg。云南漾濞县核桃必需微量元素含量由高到低为 Mn、Fe、Zn、Cu。不同地区生长的核桃部分元素含量的差异相对较大。新疆喀什的纸皮核桃, Na 元素含量相对高, 是其他品种地区的 5 倍多。6 种来源核桃中 Fe 的含量在 35.30~39.41 mg/kg 之间, 云南漾濞县核桃中的 Fe 元素含量最高, 陕西商南县核桃中 Fe 含量最低。6 种来源核桃中, Sr 元素含量差异明显, 新疆喀什地区核桃>陕西商南县核桃>新疆阿克苏地区核桃>四川盐边县核桃>云南漾濞县核桃>甘肃徽县核桃。四川盐边县核桃中 Co 元素含量相对较突出, 含量达到 17.09 mg/kg, 其他 5 个地区 Cu 元素含量为 11.61~13.58 mg/kg。新疆阿克苏地区核桃中元素 Al、Ni、Cs、Rb 高于其他样本。

表 5 核桃中 20 种元素的加标回收率及相对标准偏差($n=3$)
Table 5 Recoveries and relative standard deviations of 20 kinds of elements in walnut ($n=3$)

元素	加标质量浓度 100.0 $\mu\text{g/L}$		加标质量浓度 500.0 $\mu\text{g/L}$		加标质量浓度 1000.0 $\mu\text{g/L}$	
	平均回收率/%	RSD/%	平均回收率/%	RSD/%	平均回收率/%	RSD/%
Na	101.5	4.1	97.4	4.0	111.7	5.7
Mg	92.7	3.6	91.6	5.1	116.0	6.7
Al	101.0	5.1	103.2	4.9	113.6	7.4
K	104.1	3.3	105.3	5.1	103.7	4.1
Ca	91.3	4.5	92.6	6.3	97.8	3.5
V	83.5	3.3	81.5	3.7	92.8	5.5
Cr	89.1	3.7	96.9	4.6	109.1	3.6
Mn	99.4	2.3	104.9	5.2	105.4	4.2
Fe	85.9	2.9	82.0	5.6	102.4	6.3
Co	83.4	3.6	87.6	4.7	115.7	4.5
Ni	80.4	2.4	83.6	6.7	87.8	5.5
Cu	88.7	2.1	96.3	4.4	112.7	7.5
Zn	86.8	5.8	88.9	4.7	104.1	6.8
Ga	104.4	5.2	89.7	2.9	103.5	5.1
Se	87.6	3.6	95.7	3.3	101.3	4.8
Rb	92.2	3.5	103.1	3.7	115.1	7.9
Sr	94.7	3.3	84.7	3.2	102.3	5.5
Ag	102.7	2.6	94.3	4.1	116.1	5.9
Cs	85.1	4.2	94.2	3.5	119.3	5.9
Ba	102.2	3.5	91.8	2.6	117.4	5.6

表 6 6 种来源核桃样品中元素含量的平均值(mg/kg, n=3)
Table 6 Average value of the element content in the 6 kinds of sources of walnut sample (mg/kg, n=3)

序号	元素	ht 1	ht 2	ht 3	ht 4	ht 5	ht 6
1	Na	6.385	6.517	5.221	5.480	38.52	7.492
2	Mg	1530	1771	2056	1834	1909	1718
3	Al	2.090	3.422	1.421	2.190	3.711	5.542
4	K	2399	2907	3574	3976	3441	3358
5	Ca	153.2	170.2	145.5	121.4	170.5	141.4
6	V	0.007300	0.009600	0.004700	0.01590	0.009900	0.008100
7	Cr	0.5666	0.6293	0.1199	1.436	0.3668	0.08890
8	Mn	45.25	82.52	46.93	117.7	49.86	32.82
9	Fe	35.61	35.30	36.68	39.41	38.14	36.30
10	Co	11.61	12.38	17.09	12.11	13.58	13.34
11	Ni	0.0832	0.08050	0.08080	0.1695	0.09480	0.1223
12	Cu	2.020	1.704	3.797	4.810	2.395	5.486
13	Zn	19.04	20.31	24.89	20.44	24.63	28.13
14	Ga	0.2951	0.6795	0.3233	1.938	0.2304	0.8070
15	Se	0.006000	0.01900	0.03680	0.04700	0.03160	0.01820
16	Rb	8.902	12.27	5.051	10.48	4.786	22.25
17	Sr	2.043	26.96	6.922	6.241	30.32	15.32
18	Ag	0.06410	0.05090	0.02690	0.01840	0.04910	0.02870
19	Cs	0.01910	0.03290	0.006500	0.04040	0.02780	0.07110
20	Ba	3.290	6.952	2.729	19.84	3.432	12.28

2.3 主成分分析

利用 SIMCA14.1 软件对 36 批核桃样品中 20 种矿物质元素含量测定结果进行主成分分析,如图 2 所示。结果发现,不同产地核桃样本群在得分图中处于不同的聚落,且被明显分成了 6 组,同一来源核桃(组内样本)中矿物质含量较聚集,不同来源的核桃样品(组外样本),矿物质元素含量的离散性较大,说明元素含量的差异性受产地区域环境的影响较大。为了更好地分析核桃不同来源的矿物质含量的差异性,36 批核桃样本数据的模型验证参数可知,结实率参数 $R^2(X)=0.909$,模型区分参数 $R^2(Y)=0.942$,模型预测参数 $Q^2(cum)=0.897$,说明 90.9%变量可用来解释各组之间 94.2%的差异,该模型的平均预测能力为 89.7%,预测能力大于 50%,且 $R^2(Y)-Q^2(cum)=0.051<0.3$,表明建立的模型稳定且具有较强的预测能力^[28]。

偏最小二乘法判别分析 (partial least squares discriminant analysis, PLS-DA)是一种将数据进行降维,实现复杂数据的可视化及判别分析和预测,是一种有监督的模型分析方法。王永瑞等^[29]研究认为挥发性化合物离中心圆点和主要化合物越远,说明其对已构建的模型贡献最大。图 3 表明,元素 Zn、Ba、Ni、Mn 显著相关于其他元素。云南漾濞县、新疆阿克苏地区核桃中元素的含量与其他样品表现出较大差异。甘肃徽县、陕西商

南县、四川盐边县、新疆喀什地区核桃中各元素的含量有一定的相似。

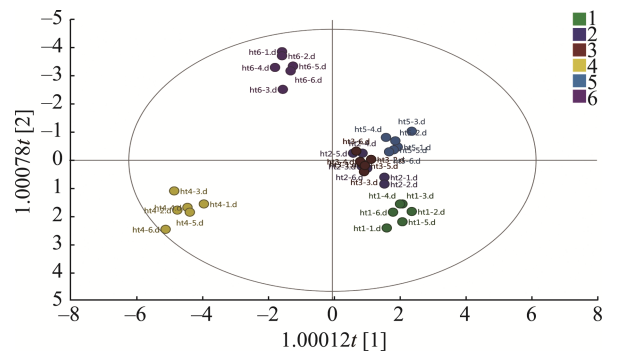


图2 不同产区核桃中20种元素PCA得分图
Fig.2 PCA scores of 20 kinds of elements in walnut from different producing areas

对 PLS-DA 模型进行置换检验,判断模型是否发生过拟合。置换检验中,模型右侧 Q^2 值在 Y 轴上的截距小于 0,则认为 PLS-DA 模型较好,无过度拟合现象^[30]。置换检验结果如图 4,根据样本随机排列进行统计学推, $R^2=(0.0,0.296)$, $Q^2=(0.0,-0.734)$, R^2 数值均位于 0 横轴上方, Q^2 回归线是负数,说明模型无过拟合现象,有良好的预测能力。

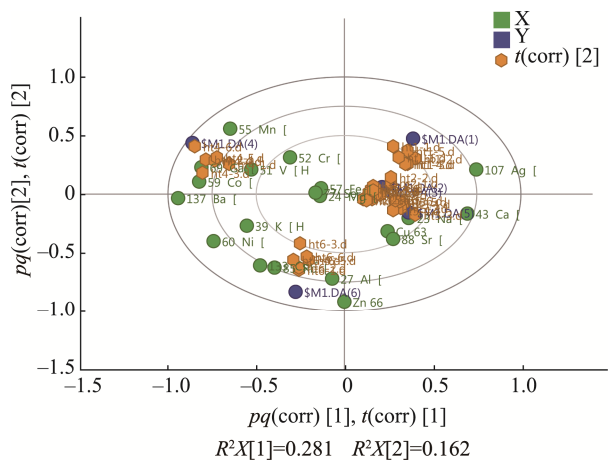


图3 不同产区核桃中主要元素双标图

Fig.3 Double labels in the main elements in walnut in different production areas

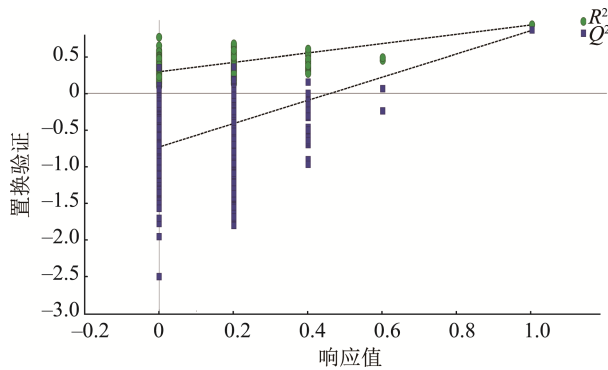


图4 PLS-DA模型置模型验证图

Fig.4 PLS-DA model setting model verification diagram

通过绘制 VIP 图确认样品中矿物质元素对分类贡献程度的大小, 见图 5。以 $VIP>1$ 进行筛选, 得出 Na、Sr、Mn、Cu、Rb、Ni、Zn、Al 和 Cs 对模型分组的贡献较大, 为甘肃徽县、陕西商南县、四川盐边县、云南漾濞县、新疆喀什地区、新疆阿克苏地区共 36 批核桃中矿物质元素的特征成分, 这 9 种特征元素可能为关键的差异标志物, 进而为产地元素特征分析鉴别提供依据。

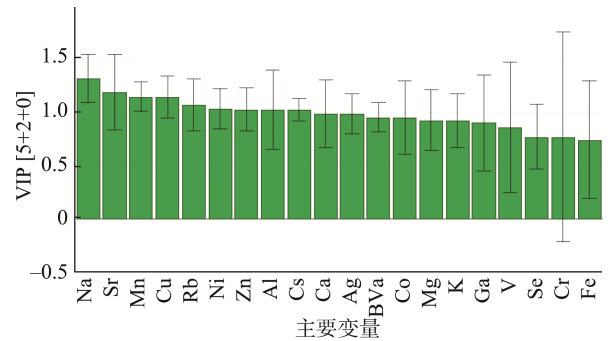
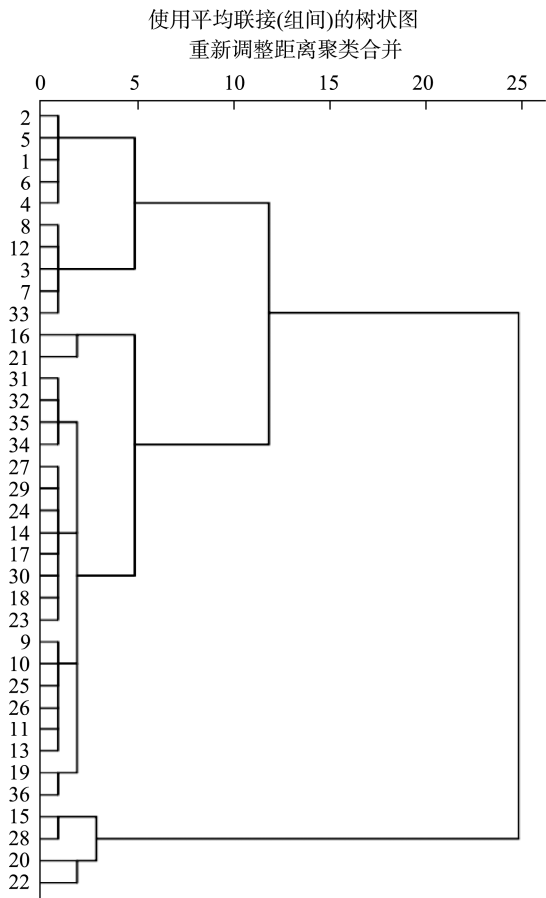


图5 不同来源核桃中20种元素含量VIP图

Fig.5 VIP diagrams of 20 kinds of element content in different sources of walnuts

2.4 特征元素与种植区域相关性的聚类分析

为进一步分析 6 种来源中核桃的 9 种特征元素与种植区域之间的相关性, 利用 PASW Statistics 18.0 软件对 36 批不同产地核桃样品进行聚类分析, 采用系统聚类法, 组间连接模式, 以平方 Euclidean 距离为度量标准, 绘制 36 批核桃样品中 20 种矿物质元素的树状图, 见图 6。结果显示, 当度量距离为 5 时, 36 批不同地区核桃样品可聚为 3 类: 甘肃徽县、陕西商南县样品聚为一类; 云南漾濞县聚为一类; 其余样品聚为一类, 主要四川盐边县、新疆阿克苏地区, 可见特征元素聚类分析结果与核桃的产地有一定的相关性, 可作为产地溯源的依据进行深入研究。



注: 1~6甘肃徽县核桃; 7~12陕西商南县核桃; 13~18四川盐边县核桃;
19~24云南漾濞县核桃; 25~30新疆喀什地区核桃;
31~36新疆阿克苏地区核桃。

图6 不同来源核桃中20种元素含量聚类分析图

Fig.6 Cluster analysis diagrams of 20 kinds of element content in different sources of walnuts

3 结 论

本研究采用电感耦合等离子体串联质谱仪建立了关于核桃中矿物质元素的测定方法, 并对 6 种产地来源核桃中 20 种矿物质元素进行测定分析, 利用 PCA 模型可以将

不同地区的核桃有效区分,利用 PLS-DA 模型中的 VIP 值筛选出关键差异标志物。结果表明,不同产区核桃中各元素含量的差异较明显,6 个产区 36 批核桃样品中,常量元素由高到低是 K、Mg、Ca,大部分样品微量元素含量由高到低为 Mn、Fe、Zn、Cu,与李世亮^[31]研究的 7 个主产区核桃微量元素含量由高到低的顺序一致。通过主成分分析和特征元素分析发现不同地区生长的核桃元素含量的差异较大,Na、Sr、Mn、Cu、Rb、Ni、Zn、Al 和 Cs 这 9 种特征元素可能是甘肃徽县、陕西商南县、四川盐边县、云南漾濞县、新疆喀什地区、新疆阿克苏地区核桃中矿物质元素关键的差异标志物。后续研究中,将扩大样本的地域和时间范围,获取更多数据进行验证,积累更具代表性的数据,为核桃产地溯源模型的建立提供数据支持,以便应用在核桃产地鉴定中,为核桃的产地溯源体系提供参考和技术支持。

参考文献

- [1] 齐静. 中国主产区核桃坚果品质研究[D]. 保定: 河北农业大学, 2009.
QI J. Research on the quality of walnuts and nuts in the main planting area of China [D]. Baoding: Hebei Agricultural University, 2009.
- [2] 吴耀鹏. 重庆核桃矿质营养动态特征研究[D]. 重庆: 西南大学, 2023.
WU YP. Chongqing walnut mineral nutritional dynamic characteristics study [D]. Chongqing: Southwest University, 2023.
- [3] FENG L, WU Y, HAN Y, *et al.* Structural characteristics, functional properties and nutritional value of walnut protein by limited enzymatic hydrolysis [J]. LWT, 2024. DOI: 10.1016/j.lwt.2024.115923
- [4] MU H, DAI T, HUANG S, *et al.* Physical and chemical properties, flavor and organoleptic characteristics of a walnut and purple rice fermented plant drink [J]. Foods, 2024, 13(3): 400.
- [5] 张亭, 杜倩, 李勇. 核桃的营养成分及其保健功能的研究进展[J]. 中国食物与营养, 2018, 24(7): 64–69.
ZHANG T, DU Q, LI Y. The research progress of the nutritional ingredients of walnuts and their health functions [J]. Chin Food Nutr, 2018, 24(7): 64–69.
- [6] MUZAFFER U, PAUL VI, PRASAD NR, *et al.* Protective effect of *Juglans regia* L. against ultraviolet B radiation induced inflammatory responses in human epidermal keratinocytes [J]. Phytomedicine, 2018, 42: 100–111.
- [7] KAIYANG Z, JI M, JUNZHAO C, *et al.* The road to reuse of walnut by-products: A comprehensive review of bioactive compounds, extraction and identification methods, biomedical and industrial applications [J]. Trends Food Sci Technol, 2024, 143: 104264.
- [8] LI L, MAN X, ZHANG H, *et al.* Determination of critical moisture content facing walnut shell breaking and optimization of combined hot air and microwave vacuum drying process [Z]. 2023.
- [9] 韩永翔. 核桃不同品种营养品质差异与产地溯源[D]. 北京: 中国林业科学研究院, 2021.
HAN YX. Different nutritional quality differences and origin of the variety of walnuts [D]. Beijing: Chinese Academy of Forestry Sciences, 2021.
- [10] 何国庆, 俞春莲, 饶盈, 等. 山核桃果实成熟过程中矿质元素及脂肪酸组分变化[J]. 浙江农林大学学报, 2019, 36(6): 1208–1216.
HE GQ, YU CL, RAO Y, *et al.* The mines and fatty acid groups in the process of maturity of the mountain walnut fruit change [J]. J Zhejiang Agric Forest Univ, 2019, 36(6): 1208–1216.
- [11] 张强, 虎海防, 李西萍. 七个新疆良种核桃品质评价分析[J]. 北方园艺, 2010, (19): 16–17.
ZHANG Q, HU HF, LI XP. Seven Xinjiang wells walnut quality evaluation analysis [J]. Northern Gard, 2010, (19): 16–17.
- [12] 虎海防, 郑伟华, 张强, 等. 新疆 6 个核桃品种种仁主要营养成分比较分析[J]. 新疆农业科学, 2010, 47(6): 1122–1125
HU HF, ZHENG WH, ZHANG Q, *et al.* The main nutritional comparative analysis of the 6 walnuts in Xinjiang [J]. Xinjiang Agric Sci, 2010, 47(6): 1122–1125
- [13] 苏彦苹, 赵爽, 齐国辉, 等. 26 份新疆核桃种仁蛋白质与氨基酸相关性分析[J]. 中国油脂, 2020, 45(6): 110–114.
SU YP, ZHAO S, QI GH, *et al.* Correlation analysis between protein and amino acids in 26 Xinjiang walnut kernels [J]. Chin J Oil Fat, 2020, 45(6): 110–114.
- [14] GU XZ, ZHANG L, LI LT, *et al.* Multisource fingerprinting for region identification of walnuts in Xinjiang combined with chemometrics [J]. J Food Process Eng, 2018, 41(4): 1–9.
- [15] 张琦, 程滨, 赵瑞芬, 等. 不同品种核桃外观品质和矿质养分含量的比较研究[J]. 中国农学通报, 2011, 27(4): 301–305.
ZHANG Q, CHENG B, ZHAO RF, *et al.* The comparative study of the appearance quality and mineral nutrient content of different varieties of walnuts [J]. China Agric Rep, 2011, 27(4): 301–305.
- [16] 王亚茹, 李雅萌, 杨娜, 等. ICP-MS 法测定三棱中的人体必需微量元素[J]. 特产研究, 2018, 40(2): 42–46.
WANG YR, LI YM, YANG N, *et al.* ICP-MS method determines the essential trace elements of human body in the trilateral [J]. Spec Res, 2018, 40(2): 42–46.
- [17] 刘杰梅, 李雪玲, 孙玥, 等. 核桃仁炒制工艺优化及其风味成分分析[J]. 中国粮油学报, 2024, 39(2): 172–180.
LIU JM, LI XL, SUN Y, *et al.* Optimization of walnut kernel fried process and its flavor composition analysis [J]. J China Grain Oil, 2024, 39(2): 172–180.
- [18] 胡桂霞, 曹美萍, 张燕峰. 电感耦合等离子体质谱法测定大米中总砷、镉和铅含量的不确定度评估[J]. 食品安全质量检测学报, 2021, 12(6): 2098–2104.
HU GX, CAO MP, ZHANG YF. The inductive plasma body constitutional composition method determines the uncertainty assessment of total arsenic, cadmium and lead content in the rice [J]. J Food Saf Qual, 2021, 12(6): 2098–2104.
- [19] 吴思霖, 王欣美, 于建, 等. 电感耦合等离子体质谱法测定猪肉中总砷的不确定度[J]. 上海预防医学, 2020, 32(5): 387–391.
WU SL, WANG XM, YU J, *et al.* Inductor coupling plasma body constitutional constitutional method to determine the uncertainty of total arsenic in pork [J]. Shanghai Prev Med, 2020, 32(5): 387–391.
- [20] 张国强, 李运, 鲁艳梅, 等. 超级微波消解-ICP-MS/AFS 测定雪松松针中 28 种元素[J]. 药物分析杂志, 2021, 41(6): 1046–1053.
ZHANG GQ, LI Y, LU YM, *et al.* Superwave dissolving-ICP-MS/AFS determine 28 elements of cedar pine needles [J]. Drug Anal Magaz, 2021, 41(6): 1046–1053.
- [21] 李莉, 常欣, 崔慧芳, 等. ICP-MS 法结合化学计量学分析紫菀不同药

- 用部位中无机元素的差异[J]. 中药材, 2023, 46(6): 1447–1453.
- LI L, CHANG X, CUI HF, *et al.* ICP-MS method combines chemical measurement analysis of the differences in the inorganic elements in different medicinal parts of Ziru [J]. *Chin Med Mater*, 2023, 46(6): 1447–1453.
- [22] 李冬云, 陈立波, 罗玲. 微波消解-电感耦合等离子体质谱测定法测定口服液类保健食品中营养元素[J]. 食品安全质量检测学报, 2020, 11(17): 6152–6156.
- LI DY, CHEN LB, LUO L. Microwave anti-solving-duke-inductive plasma constitutional fixation method measures oral liquid health foods in health foods [J]. *J Food Saf Qual*, 2020, 11(17): 6152–6156.
- [23] 潘小红, 林海. 微波消解-电感耦合等离子体质谱法测定保健食品中 28 种元素[J]. 中国卫生检验杂志, 2016, 26(15): 2136–2139.
- PAN XH, LIN H. Microwave anti-solving-duke-inductive plasma body constitutional composition method measurement 28 elements of health food [J]. *China Health Inspect Magaz*, 2016, 26(15): 2136–2139.
- [24] 朱仁愿, 姬良亮, 张晓萍, 等. ICP-MS 法同时测定白石脂药材中 27 种重金属及微量元素的含量[J]. 中国药房, 2019, 30(10): 1380–1385.
- ZHU RY, JI LL, ZHANG XP, *et al.* ICP-MS method also determines the content of 27 types of heavy metals and trace elements in whitestone grease [J]. *China Pharm*, 2019, 30(10): 1380–1385.
- [25] 张家旭, 王信, 董学凤, 等. 电感耦合等离子体质谱(ICP-MS)法结合化学计量学分析比较 6 种松针中无机元素的含量[J]. 中国无机分析化学, 2023, 13(3): 278–285.
- ZHANG JX, WANG X, DONG XF, *et al.* Inductor coupling plasma mass spectrometry (ICP-MS) method combined with chemical measurement analysis comparison of 6 kinds of inorganic elements in 6 kinds of pine needles [J]. *China Inorg Anal Chem*, 2023, 13(3): 278–285.
- [26] NIKOLA S, MAJA K, JASMINKA D, *et al.* Application of spectrophotometric fingerprint in cluster analysis for starch origin determination [J]. *Food Technol Biotechnol*, 2020, 58(1): 5–11.
- [27] LI Q, WANG R, SUN S, *et al.* Comparison of different drying technologies for walnut (*Juglans regia* L.) pellicles: Changes from phenolic composition, antioxidant activity to potential application [J]. *Food Chemistry: X*, 2023, 20: 101037.
- [28] 陈婷, 张文, 朱仁愿, 等. UPLC-Q-TOF/MS 结合化学计量学对不同产地香圆主要成分的研究[J]. 中国民族民间医药, 2023, 32(22): 47–52.
- CHEN T, ZHANG W, ZHU RY, *et al.* Research on the main component of different production of different production places in combination with chemical measurement [J]. *Chin Nat Folk Med*, 2023, 32(22): 47–52.
- [29] 王永瑞, 柏霜, 罗瑞明, 等. 基于电子鼻、GC-MS 结合化学计量学方法鉴别烤羊肉掺假[J]. 食品科学, 2022, 43(4): 291–298.
- WANG YR, BAI S, LUO RM, *et al.* Identification of adulterated roasted mutton based on electronic nose, GC-MS combined with chemometrics [J]. *Food Sci*, 2022, 43(4): 291–298.
- [30] 张琪, 董旭阳, 许秀丽, 等. 基于靶向代谢组学法鉴别真伪海鸭蛋[J]. 中国食品卫生杂志, 2020, 32(3): 250–256.
- ZHNG Q, DONG XY, XU XL, *et al.* Authentication method of sea duck eggs based on targeted metabolomics [J]. *Chin J Food Hyg*, 2020, 32(3): 250–256.
- [31] 李世亮. 中国七个主产区核桃综合品质差异比较[D]. 北京: 中国林业科学研究院, 2018.
- LI SL. Comparison of comprehensive quality differences in the comprehensive quality of walnuts in seven main producing areas in China [D]. Beijing: China Academy of Forestry Science, 2018.

(责任编辑: 韩晓红 于梦娇)

作者简介



彭 涛, 硕士, 高级工程师, 主要研究方向为食品药品检测与质量控制。
E-mail: 514460878@qq.com



吴 振, 博士, 教授, 博士生导师, 主要研究方向为食品加工与技术。
E-mail: woodsens@163.com