

同位素指纹图谱技术在农产品产地溯源中的应用

马楠, 鹿保鑫*, 刘雪娇, 付磊

(黑龙江八一农垦大学 食品学院, 黑龙江 大庆 163319)

摘要: 稳定同位素指纹图谱技术具有灵敏度高、实验操作简便、可较好的区分被追踪物质是新加入的还是试验系统固定的等优点, 已被广泛应用于农产品产地溯源之中, 对区分我国不同地区的农产品有重要意义。主要阐述了同位素指纹图谱技术的基本原理及其在农产品产地溯源中的优越性和局限性, 综述了其在农产品产地溯源中的应用情况, 并对其发展前景进行展望。

关键词: 同位素指纹图谱技术; 农产品; 溯源; 应用前景

The Usage of Isotope Fingerprint Technology in the Origin Traceability of Agricultural Production

MA Nan, LU Bao-xin*, LIU Xue-jiao, FU Lei

(College of Food Science, Heilongjiang Bayi Agricultural University, Daqing 163319, Heilongjiang, China)

Abstract: Stable Isotope fingerprint technology had the advantage of high sensitivity, simple experimental operation. It could be also used to distinguish the tracking material whether it was a new addition or it was inherent to the test system, etc. It had been widely used in the origin of agricultural products traceability, it was of great significance to distinguish agricultural products from different regions of China. This paper mainly expounded the basic principles of the isotope fingerprinting technology and its advantages and limitations in the agricultural product origin traceability, the application situation of the origin of agricultural products was briefly introduced and the prospect was put forward.

Key words: isotope fingerprint technology; agricultural products; origin traceability; application prospect

随着全球农产品贸易的不断发展, 农产品安全已日益成为人们关注的热点问题之一, 如近年来日本出现的“毒泡菜事件”、欧洲出现的“马肉事件”以及我国出现的“镉大米事件”等都严重影响到人的身体健康甚至生命安全^[1], 因此为保证食品安全, 世界各国都强调食品要从“农田到餐桌”进行全过程监控, 有效召回或撤销出现问题的产品, 实施食品安全追溯制度。食品的产地追溯技术既是食品危害物溯源的前提基础, 同时也是保障食品质量安全的有效技术手段^[2]。有研究显示, 英国物理学家 Thomson J.J. 在上世纪 20 年代就已经发现了稳定同位素的存在, 但是由于当时没有成熟的测试技术手段以及经济条件等因素的影响, 人们忽视了同位素的价值。直到上世纪 50 年代初, 随着

傅立叶变换核磁共振技术以及质谱-色谱联用技术的出现, 人们才真正了解并应用这门技术^[3]。稳定同位素比值分析法首次用在食品中是在 1978 年。美国学者 White 博士用此法来鉴别蜂蜜真假^[4]。近些年, 该技术在国际上已广泛应用于植源性食品, 如果汁、蜂蜜、橄榄油、牛奶、芦笋和动物源性产品, 如鸡肉、羊肉、牛肉等农产品的产地溯源研究中^[5-12]。随着同位素指纹图谱分析技术不断发展, 试验仪器设备逐渐趋于完善成熟, 稳定同位素指纹技术也逐渐投入到实际农产品追溯方面^[13], 逐渐成为了农产品追溯体系中不可或缺的技术之一。

1 稳定性同位素指纹图谱技术

近些年, 人们越来越重视对农产品产地溯源的研究, 同位素指纹图谱技术在农产品产地溯源研究方面得到了长足的发展和广泛的应用。

作者简介: 马楠(1992—), 女(汉), 硕士在读, 研究方向: 粮食、油脂及植物蛋白工程。

* 通信作者

该技术的原理是生物体内稳定同位素会因环境、生物代谢类型、土壤、气候及饲料种类等因素的影响而发生自然分馏效应,由于生物体不断与外界发生生理化和生化反应,导致了生物体内某种元素的“重”同位素和“轻”同位素比值的可测量变化^[14],从而使来源不同的物质中同位素丰度存在自然差异,而这种自然差异能够携带环境因子的信息,从而反映出生物体所处的环境^[15]。该技术正是利用这一原理实现食品产地追溯。

到目前为止,同位素分析过程中应用的最主要的元素是C、S、H、N、O、B、Pb和Sr。而不同地域来源及不同种类的生物体内同位素会因各种因素的影响而存在自然丰度的差异,其主要的指标有 $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ 、 $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ 、 $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ 、 $^2\text{H}/^1\text{H}$ 和 $^{34}\text{S}/^{32}\text{S}$ 等。但是,由于环境因素如:温度、降水量等变化,使得由单一同位素测得的结果会出现较大的误差,无法确定数据的真实性。因此,科学家们从对单一同位素的分析,发展到多种同位素分析、同位素比值分析、结合元素或其他生物化学方法等的统一分析。

该技术是通过来源不同的生物体内多种同位素及其比值进行分析,再进行配对样本t检验分析、单因素方差分析、Duncan's多重比较分析和系统聚类分析等数理统计方法筛选出有效指标,从而建立数据库及判别模型,实现农产品产地溯源的追溯与认证。如Rummel等^[16]利用IRMS对来自多个地区的150个橙汁样品中的多种同位素(N、C、Sr、S、H)进行了研究,发现离赤道越近(古巴、墨西哥和佛罗里达), ^2H 值越大,而古巴橙汁中 ^{34}S 值(0.88%~1.096%)明显高于墨西哥(0.181%~1.025%)。另外,在阿根廷种植区橙汁中 ^{15}N 值较高(0.8%~0.9%)其原因是由于该地区广泛施用有机肥,而在意大利和希腊种植区广泛施用合成氮肥,导致该地区 ^{15}N 值最低(<0.4%)。Simpkins等^[17]利用IRMS对来自巴西的38个果肉样品以及42个浓缩果汁样品和澳大利亚的40个橙汁样品进行碳同位素研究,发现其同位素丰度都存在地域性差异。

2 同位素指纹图谱技术优势与局限性

2.1 同位素指纹图谱技术在农产品产地溯源中的优势

同位素指纹图谱追溯技术体系的建立既能增强消费者对食品领域的信心,又能保证食品安全,同时该技术也是保护地区品牌和特色产品的有效手段。实践证明,稳定同位素指纹图谱技术是溯源体系中新兴的重要检测手段,具有其他产地溯源技术所不能比拟的优势。首先,1)基本效应和仪器条件的变化对稳定同位素比值的测定影响较少,故该技术具有准确度高、无污染、精密度好等优点^[1];2)灵敏度高、实验操作简便、可较好的区分被追踪物质是新加入的还是试验

系统固定的等优点;(3)稳定同位素没有放射性,不会造成二次污染,并且可以检测 10^{-14} ~ 10^{-19} g水平的剂量^[18];其次,同位素不会随着生物体物理性质的变化而变化,它是生物体的自然属性。故它可以成为辨别农产品来源的科学技术的有力手段。Suzuki等^[19]通过对中国苹果和日本苹果O和C同位素组成分析,得出中国和日本苹果样品O和C同位素组成有显著差异,可较好的区分中国和日本苹果,同时利用这种方法对日本国内不同产地的苹果也能进行正确判别。Rummel等^[20]通过对产自非洲、北美、欧洲和南美150份橙汁中 $\delta^2\text{H}$ 、 $\delta^{13}\text{C}$ 、 $\delta^{15}\text{N}$ 、 $\delta^{34}\text{S}$ 、 $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ 进行测定,得出不同产地的橙汁同位素组成有明显地域差异,其同位素的组成与岩石特征、气候和地形等差异有显著关系,另外还发现生产的橙汁中 $\delta^{15}\text{N}$ 显著高于地区的橙汁产品,其原因是由于阿根廷广泛施用有机肥,而希腊和意大利施用的是合成肥。

2.2 同位素指纹图谱技术在农产品产地溯源中的局限性

稳定同位素指纹图谱技术虽然具有灵敏度高、实验操作简便、可较好的区分被追踪物质是新加入的还是试验系统固定的等优点,但是利用该技术对农产品产地进行鉴别,容易受到大陆效应、纬度效应和海拔效应的综合影响,同时会随着地理位置的变化而变化^[21]。因此,该技术的局限性不可忽略。例如,动物源农产品中的同位素组成不仅与它们代谢过程中同位素分馏有关,而且还受到它们所食用的植物饲料中同位素组成的影响。对于动物源农产品产地追溯方面,许多问题还有待进一步研究,如目前还不完全清楚动物不同部位、不同化学成分中同位素组成情况,而在进行溯源研究时,还没有统一的组织部位及化学成分作为检测对象进行参考^[22];气候、饮水、饲料、地质、土壤及动物体本身等因素对组织中的同位素组成的影响还没有完全的规律可循;动物在一生当中可能会更换不同的生活环境或者经常会食用来源不同地区的饲料,致使对动物的产地来源判断比较困难^[23]。以上因素在动物源农产品中还需要进一步的研究与探讨。而在植物源农产品中,植物组织中的同位素组成与其生长的地理环境、气候环境(海拔、纬度、大气压力、温度、湿度及降雨量等因素)、与其来源物质(H_2O 、 CO_2 、 NH_4^+ 、 NO_2^-)的同化过程密切相关。例如,土壤中的含碳植物碳的固定过程(如 C_3 、 C_4)决定了C同位素的组成;局部地下水(如冰雪融水和大气降水)决定了O和H同位素组成。利用该技术进行农产品产地溯源的实际研究情况比较复杂,需要有相应的试验田连续多年进行研究,分析各种影响因素对农产品产地溯源的影响,把影响因素水平降到合理的范围内,实际工作、分析

难度较高^[24]。另外,稳定性同位素技术需要一个可靠的数据库支撑,该技术实验室一次性投入比较大,且对检测设备要求比较高,以上各个因素就限制了该技术在农产品产地溯源中的广泛应用^[25]。

3 同位素指纹图谱技术在农产品产地溯源中的应用

稳定同位素技术之所以能成为农产品产地溯源研究的最有效的手段之一,其主要原因是由于生物体中的同位素组成能够反映其生长环境中的很多因素,如地质、气候、饲料种类、饮水及动植物的代谢类型等^[2],被认为是追溯农产品来源的一种有效方法。国内外对其在追溯农产品产地来源上的应用报道日益增多。该技术在以下农产品上应用广泛。

Horacek 等利用稳定同位素指纹分析技术对澳大利亚、韩国、新西兰、美国和墨西哥的牛肉样品进行分析,得到不同地区牛肉样品中同位素比值有显著差异^[26],稳定同位素指纹分析技术用于牛肉产地溯源是有效可行的。KOSIR,IJ 等利用核磁共振光谱和同位素质谱技术测定斯洛文尼亚 3 个不同地区红酒中的同位素比值,结合主成分分析方法可成功地进行判别^[27]。

Brescia 等利用 IRMS 测定不同原产地的牛奶中的¹⁵N/¹⁴N、Ba 和¹³C/¹²C 元素含量,结果表明不同原产地的牛奶中同位素的比值有显著差别,证明了 IRMS 适用于乳制品的产地判别^[28]。Martinelli 等测定了来自欧洲、南美、澳大利亚和美国的气泡葡萄酒中的同位素,发现具有显著差异^[29]。

Yaeko 等^[30]用 IRMS 研究了美国、日本、澳大利亚共 14 个大米样品,得出选择的日本大米样品产地主要分布在日本西海岸。Bontempo 等^[31]采用同位素比率质谱仪测定来自 3 个地区的番茄糊、番茄酱和番茄汁等番茄制品中¹⁸O/¹⁶O、³⁴S/³²S、D/H、¹³C/¹²C 和¹⁵N/¹⁴N 的比率,结果发现加工方式不同的番茄制品中 $\delta^{18}\text{O}_{\text{water}}$ 、 $\delta^{18}\text{O}_{\text{bulk}}$ 、 δD 含量有极显著差异。

Scampicchio 等^[32]选取意大利不同地区的不同热处理方式的牛奶,进行牛奶及其组分(乳清、酪蛋白、脂肪)中 $\delta^{15}\text{N}$ 和 $\delta^{13}\text{C}$ 值的测定,结果发现不同热处理方式的牛奶中 $\delta^{15}\text{N}$ 、 $\delta^{13}\text{C}$ 值都有显著差异;然后对其试验结果进行主成分分析、线性判别分析等,进而建立判别模型,经过验证该模型对不同加工类型、不同地域牛奶样品均可有效判别,正确判别率达 100%。

Simon Branch 等^[33]测定了来自欧洲、加拿大和美国小麦样品中的铅、 $\delta^{15}\text{N}$ 、镉、硒、 $\delta^{13}\text{C}$ 和镭,结果发现仅仅用 $\delta^{13}\text{C}$ 就能完全区分 3 个来源不同地域的小麦样品。上述研究中通过对不同地域的小麦中 C、N 同位素的分析,发现不同地域中某一同位素的含量有着明显的不同。Kawasaki 等^[34]在中国、越南和澳大利亚进行了大

米的样品采集,并测定了样品中 Sr 同位素⁸⁷Sr 和⁸⁶Sr 的比值,结果发现⁸⁷Sr/⁸⁶Sr 比值在 0.715~0.717 的高比值大米出现在澳大利亚地区,而越南和中国大米中⁸⁷Sr/⁸⁶Sr 的值在 0.710~0.711 之间。

Oda 等^[34]通过对来自中国、澳大利亚、美国、越南和日本大米样品中的⁸⁷Sr/⁸⁶Sr 和¹¹B/¹⁰B 值的测定,得到不同地域间⁸⁷Sr/⁸⁶Sr 和¹¹B/¹⁰B 比值不同,且有明显地域差异。故以¹¹B/¹⁰B 和⁸⁷Sr/⁸⁶Sr 为特征值可实现对不同产地的大米样品的判别。

Christoph 等通过对 1997 年到 2001 年生产的克罗地亚葡萄酒和匈牙利葡萄酒中 $\delta^{18}\text{O}$ %和 δD %值的研究,结果发现,沿海种植和大陆种植区的克罗地亚葡萄酒中的 $\delta^{18}\text{O}$ %值存在显著差异,而匈牙利葡萄酒同位素与种植地区同位素相比具有较小差异或几乎无差异。其原因主要是由于靠近亚得里亚海的干热气候引起的^[35]。Schmidt 等通过测定欧洲 35 个、巴西 10 个和美国 23 个牛肉样品中的 $\delta^{34}\text{S}$ %、 $\delta^{15}\text{N}$ %和 $\delta^{13}\text{C}$ %值,成功的判别出了它们的地理来源,同时对爱尔兰牛肉中饲料喂养牛肉和牧场牛肉也有很好的判别^[36]。王慧文利用同位素质谱测定了不同地区脱脂鸡肉中的 $\delta^{15}\text{N}$ %和 $\delta^{13}\text{C}$ %以及饲料中 $\delta^{13}\text{C}$ %值,结果发现,C、N 同位素数值在各地存在显著差异,而饲料中 $\delta^{13}\text{C}$ %值与鸡肉粗蛋白中的 $\delta^{13}\text{C}$ %值高度相关,故可以利用同位素技术实现对不同地域鸡肉的地理追溯^[37]。

4 前景展望

近些年,稳定同位素指纹图谱技术在判别农产品的真伪和追溯农作物的品种、地理起源上起了很重要的作用,可见该技术在农产品追溯体系中有很大发展空间。而且发现该技术与其它的产地追溯技术相结合判别的农产品的产地来源更加准确。因此,研究快速、准确、廉价的鉴定农产品产地的方法是今后的一个发展方向。目前我国的稳定同位素指纹图谱溯源技术才刚刚起步,仍需建立健全的各种农产品同位素指纹图谱产地溯源数据库,这样该技术才能在我国日益发展的农业生产中得到广泛应用。

参考文献:

- [1] 钟敏.用碳氮稳定同位素对大米产地溯源的研究[D].大连:大连海事大学,2013
- [2] 刘晓玲,郭波莉,魏益民,等.不同地域牛尾毛中稳定同位素指纹差异分析[J].核农学报,2012,26(2):330-334,329
- [3] Simpkins W A, Rigby D. Detection of the illicit extension of potable spirituous liquors using ¹³C: ¹²C ratios[J]. Journal of the Science of Food & Agriculture, 1982, 33(9):898-903
- [4] White J W, Doner L W. Mass spectrometric detection of high-fructose coin syrup in honey by use of ¹³C/¹²C ratio: collaborative study

- [J]. Journal of the Association of Official Analytical Chemists, 1978, 61:746-750
- [5] Schellenberg A, Chmielus S, Schlicht C, et al. Multielement stable isotope ratios (H, C, N, S) of honey from different European regions [J]. Food Chemistry, 2010, 121(3):770-777
- [6] Simpkins W A, Patel G, Harrison M, et al. Stable carbon isotope ratio analysis of Australian orange juices [J]. Food Chemistry, 2000, 70(70):385-390
- [7] Kornel B E, Werner T, Roßmann A, et al. Measurement of stable isotope abundances in milk and milk ingredients—A possible tool for origin assignment and quality control [J]. Zeitschrift fuer Lebensmittel—Untersuchung und —Forschung (Germany), 1997, 205(1):19-24
- [8] Swoboda S, Brunner M, Boulyga S F, et al. Identification of Marchfeld asparagus using Sr isotope ratio measurements by MC-ICP-MS [J]. Analytical & Bioanalytical Chemistry, 2008, 390(2):487-94
- [9] Camin F, Larcher R, Perini M, et al. Characterisation of authentic Italian extra-virgin olive oils by stable isotope ratios of C, O and H and mineral composition [J]. Food Chemistry, 2010, 118(4):901-909
- [10] Horacek M, Min J S. Discrimination of Korean beef from beef of other origin by stable isotope measurements [J]. Food Chemistry, 2010, 121(2):517-520
- [11] 孙淑敏,郭波莉,魏益民,等. 羊组织中碳、氮同位素组成及地域来源分析 [J]. 中国农业科学, 2010, 43(8):1670-1676
- [12] 王慧文,杨曙明,程永友. 鸡肉中稳定同位素组成与饲料和饮水关系的研究 [J]. 分析科学学报, 2008, 24(1):47-50
- [13] 李成,潘立刚,王纪华,等. 稳定同位素技术在农产品产地溯源中的应用研究进展 [J]. 农业质量标准, 2013(5):53-59
- [14] 王颜红,李国琛,张红,等. 食品产地溯源技术研究进展 [J]. 农产品质量与安全, 2012, S1:41-45
- [15] 郭波莉,魏益民,潘家荣. 同位素指纹分析技术在食品产地溯源中的应用进展 [J]. 农业工程学报, 2007, 23(3):284-289
- [16] Susanne R, Stefan H, Peter H, et al. The combination of stable isotope abundance ratios of H, C, N and S with $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ for geographical origin assignment of orange juices [J]. Food Chemistry, 2010, 118(4):890-900
- [17] Simpkins W A, Patel G, Harrison M, et al. Stable carbon isotope ratio analysis of Australian orange juices [J]. Food Chemistry, 2000, 70(70):385-390
- [18] 蔡德陵,张淑芳,张经. 稳定碳、氮同位素在生态系统研究中的应用 [J]. 中国海洋大学学报(自然科学版), 2002, 32(2):287-295
- [19] Suzuki Y, Nakashita R, Kobe R, et al. Tracing the Geographical Origin of Japanese (Aomori Prefecture) and Chinese Apples using Stable Carbon and Oxygen Isotope Analyses [J]. Nippon Shokuhin Kagaku Kogaku Kaishi, 2012, 59(2):69-75
- [20] Susanne R, Stefan H, Peter H, et al. The combination of stable isotope abundance ratios of H, C, N and S with $\text{Sr}-^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ for geographical origin assignment of orange juices [J]. Food Chemistry, 2010, 118(4):890-900
- [21] 吕军,王东华,杨曙明,等. 利用稳定同位素进行牛肉产地溯源的研究 [J]. 农业质量标准, 2015(3):32-36
- [22] 孙丰梅,石光雨,王慧文,等. 牛不同组织中稳定性同位素氢、氧、硫组成探讨 [J]. 核农学报, 2012, 26(8):1148-1153
- [23] 孙丰梅. 应用稳定同位素进行牛肉溯源的研究 [D]. 北京:中国农业科学院, 2009
- [24] 缪清玲. 用多种稳定同位素分析法追溯褐飞虱远距离迁飞虫源地 [D]. 杭州:浙江大学, 2012
- [25] 王成,赵多勇,杨莲,等. 新疆库尔勒香梨指纹图谱研究现状与进展 [J]. 新疆农业科学, 2013(9):1759-1764
- [26] Horacek M, Min J S. Discrimination of Korean beef from beef of other origin by stable isotope measurements [J]. Food Chemistry, 2010, 121(2):517-520
- [27] Košir I J, Kocjančič M, Ogrinc N, et al. Use of SNIF-NMR and IRMS in combination with chemometric methods for the determination of chaptalisation and geographical origin of wines (the example of Slovenian wines) [J]. Analytica Chimica Acta, 2001, 429(2):195-206
- [28] Brescia M A, Caldarola V, Buccolieri G, et al. Chemometric determination of the geographical origin of cow milk using ICP-OES data and isotopic ratios: a preliminary study. [J]. Italian Journal of Food Science, 2003, 15(3):329-336
- [29] Martinelli L A, Moreira M Z, Ometto J P, et al. Stable carbon isotopic composition of the wine and CO_2 bubbles of sparkling wines: detecting C_4 sugar additions. [J]. Journal of Agricultural & Food Chemistry, 2003, 51(9):2625-2631
- [30] Suzuki Y, Chikaraishi Y, Ogawa N O, et al. Geographical origin of polished rice based on multiple element and stable isotope analyses [J]. Food Chemistry, 2008, 109(2):470-475
- [31] Bontempo L, Camin F, Manzocco L, et al. Traceability along the production chain of Italian tomato products on the basis of stable isotopes and mineral composition [J]. Rapid Communications in Mass Spectrometry, 2011, 25(25):899-909
- [32] Scampicchio M, Mimmo T, Capici C, et al. Identification of milk origin and process-induced changes in milk by stable isotope ratio mass spectrometry [J]. Journal of Agricultural & Food Chemistry, 2012, 60(45):11268-11273
- [33] Branch S, Burke S, Evans P, et al. A preliminary study in determining the geographical origin of wheat using isotope ratio inductively coupled plasma mass spectrometry with ^{13}C , ^{15}N mass spectrometry [J]. Journal of Analytical Atomic Spectrometry, 2003, 18(1):17-22
- [34] Akira Kawasaki, Hisao Oda, Takafumi Hirata. Determination of strontium isotope ratio of brown rice for estimating its provenance [J]. Soil Science & Plant Nutrition, 2002, 48(5):635-640
- [35] Christoph N, Baratosy G, Kubanovic V, et al. Possibilities and limitations of wine authentication using stable isotope ratio analysis and traceability. Part 2: Wines from Hungary, Croatia and other European countries [J]. Mitteilungen Klosterneuburg, 2004, 54:144-158
- [36] Schmidt O, Quilter J M, Bahar B, et al. Inferring the origin and dietary history of beef from C, N and S stable isotope ratio analysis [J]. Food Chemistry, 2005, 91(3):545-549
- [37] 王慧文. 利用稳定同位素进行鸡肉溯源的研究 [D]. 北京:中国农业科学院, 2007