

稳定性氢同位素在羊肉产地溯源中的应用

孙淑敏^{1,2}, 郭波莉², 魏益民², 樊明涛¹

(¹西北农林科技大学食品科学与工程学院, 陕西杨凌 712100; ²中国农业科学院农产品加工研究所/农业部农产品加工综合性重点实验室, 北京 100193)

摘要:【目的】探讨稳定性氢同位素在羊肉产地来源鉴别中的作用, 为羊肉产地同位素溯源指标体系的确定和构建提供依据。【方法】利用稳定性同位素比率质谱仪 (IRMS) 测定来自内蒙古自治区锡林郭勒盟、阿拉善盟和呼伦贝尔市 3 个牧区, 重庆市和山东省菏泽市 2 个农区脱脂羊肉中的 $\delta^2\text{H}$ 值, 通过方差分析和相关分析, 探讨稳定性氢同位素组成的地域特征及其变化规律; 结合 C、N 同位素指标, 采用聚类分析及判别分析, 进一步了解氢同位素在羊肉产地来源判别中的作用。【结果】不同地域来源羊肉中的 $\delta^2\text{H}$ 值具有显著性差异, 其 $\delta^2\text{H}$ 值主要与当地饮水中的 $\delta^2\text{H}$ 值高度相关。判别分析结果表明, $\delta^2\text{H}$ 值可使 $\delta^{13}\text{C}$ 、 $\delta^{15}\text{N}$ 指标对羊肉产地的正确判别率由 80.8% 提高到 88.9%。【结论】稳定性氢同位素能够提供可靠的地域信息, 可作为追溯和鉴定羊肉产地来源的一项有效指标。

关键词: 羊肉; 原产地; 溯源; 稳定性同位素; $\delta^2\text{H}$

Application of Stable Hydrogen Isotope in the Origin Traceability of Lamb Meat

SUN Shu-min^{1,2}, GUO Bo-li², WEI Yi-min², FAN Ming-tao¹

(¹College of Food Science and Engineering, Northwest A & F University, Yangling 712100, Shaanxi; ²Institute of Agro-Products Processing Science and Technology, Chinese Academy of Agricultural Sciences/ Comprehensive Key Laboratory of Agro-Products Processing, Ministry of Agriculture, Beijing 100193)

Abstract: 【Objective】 Stable hydrogen isotope analysis was investigated for its potential in classification of lamb meat samples according to their geographical origins, aiming to provide a basis for the establishment of traceability indicator system of lamb meat in China. 【Method】 The $\delta^2\text{H}$ values of defatted lamb meat originating from three pastoral regions including Alxa League, Xilin Gol League and Hulunbuir City of Inner Mongolia, and two agricultural regions including Chongqing and Heze City were determined by Isotope Ratio Mass Spectrometry (IRMS). Analysis of variance (ANOVA) and correlation analysis were used to investigate the difference and the change of $\delta^2\text{H}$ value in lamb meat depending on the geographical origin. Moreover, cluster analysis (CA) and discriminant analysis (DA) were applied to find out the role of hydrogen isotope in the discrimination of geographical origin of lamb meat combined with carbon and nitrogen isotopes. 【Result】 There was a significant difference in $\delta^2\text{H}$ value of defatted lamb meat from different regions, and the $\delta^2\text{H}$ value in lamb meat was highly correlated with the $\delta^2\text{H}$ value of their drinking water. The discriminant results showed that $\delta^2\text{H}$ value could enhance the discrimination power of the combination of $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$ for lamb meat, and the improved total correct classification rate was from 80.8% to 88.9%. 【Conclusion】 The stable hydrogen isotope can provide reliable origin information and can be used to trace and authenticate the geographical origin of lamb meat.

Key words: lamb meat; origin; traceability; stable isotope; $\delta^2\text{H}$

收稿日期: 2011-06-15; 接受日期: 2011-11-02

基金项目: 国家自然科学基金项目(30800862)、科技部“十一五”科技支撑计划重大项目 (2006BAK02A16)、农业部“948”项目 (2009-Z45 (2))

联系方式: 孙淑敏, Tel: 010-62895141; Fax: 010-62895141; E-mail: xianyun730@163.com。通信作者樊明涛, Tel: 029-87092486; E-mail: mingtaofan@tom.com

0 引言

【研究意义】在食品安全问题日益突出、消费者的食品原产地意识不断增强、相关法律要求食品必须有明确的产地标识等因素的推动下, 食品产地溯源技术已成为食品安全领域新的研究热点, 也是保障食品安全、加强政府监管的有效措施之一。稳定性同位素指纹、矿物元素指纹和化学成分分析是目前溯源研究中应用较多的几种方法^[1-2]。其中, 稳定性同位素组成作为食品的自然指纹, 不随化学添加剂的改变而改变, 能提供更为可靠、准确的食品产地来源信息。【前人研究进展】国际上, 同位素技术已被广泛用于鉴定葡萄酒^[3]、蜂蜜^[4]、果汁^[5]、橄榄油^[6]等植源性食品的掺假和产地来源的真实性。随着动物性食品安全问题的频繁发生, 该技术也被用于奶制品^[7-8]、肉品及其饲料来源^[9]的鉴别中。目前, 肉品的溯源研究主要集中在牛肉的饲喂体系和产地来源^[10-11]上, 对羊肉、猪肉^[12]、家禽^[13]也有少量报道。常用的指标包括 $\delta^{13}\text{C}$ 、 $\delta^{15}\text{N}$ 、 $\delta^2\text{H}$ 、 $\delta^{18}\text{O}$ 、 $\delta^{34}\text{S}$ 等轻稳定性同位素。Piasentier 等通过比较欧洲 6 个国家、不同饲喂体系羊肉中的 $\delta^{13}\text{C}$ 和 $\delta^{15}\text{N}$ 值, 发现不同饲喂方式的羊肉 $\delta^{13}\text{C}$ 值具有极显著性差异, 主要受饲料种类的影响, $\delta^{15}\text{N}$ 值则与当地气候、土壤状况和农业生产方式有关。利用碳、氮同位素对地域和饲喂体系的正确判别率分别为 79.2% 和 91.7%, 表明碳、氮同位素指标对饲喂体系的区分更为有效, 而对地域的区分还需考虑其它同位素指标^[14]。同时, 部分研究发现, 肉粉、毛或骨中的 $\delta^2\text{H}$ 和 $\delta^{18}\text{O}$ 值与动物饮用水有关, 与地域关系更为密切, 对地域的判别可能更为有效。Heaton 等发现来源不同

国家牛肉粗脂肪中的 $\delta^2\text{H}$ 和 $\delta^{18}\text{O}$ 值与地域纬度显著相关, 随纬度的增加而减小, 并筛选出 $\delta^2\text{H}$ 值作为地域判别的一项重要指标^[15]。作者前期研究中主要对不同地域来源羊组织中碳、氮同位素的组成差异及其变化规律进行了分析, 初步表明碳、氮同位素对羊肉产地溯源是可行的^[16], 但仅这两项指标并不能完全区分不同来源的羊肉, 还需结合其它同位素构建一套适于羊肉产地溯源的同位素指标体系。【本研究切入点】为了进一步探寻羊肉产地溯源合适的指标, 本研究重点分析不同地域来源脱脂羊肉中稳定性氢同位素的组成差异, 探讨其随地域的变化规律, 以及对羊肉产地来源的判别效果。【拟解决的关键问题】了解稳定性氢同位素组成的地域变化规律及其溯源效果, 为羊肉产地同位素溯源指标体系的构建和实际应用提供依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

2008 年 9—12 月, 从内蒙古自治区锡林郭勒盟太仆寺旗、呼伦贝尔市海拉尔区和阿拉善盟阿拉善左旗 3 个牧区, 山东省菏泽市和重庆市 2 个农区共采集 99 只 6—10 月龄羔羊的羊肉样品。采样地具体信息见表 1。

1.2 样品采集

羊肉: 取屠宰后每只羊的右后腿肉 500 g, 装入自封袋, 于-20℃冰箱中保藏。

饮水样: 在当地牧场或农户家取羊的饮用水样。

1.3 样品前处理

羊肉: 将 50 g 羊肉样品切成小于 1 cm³的小块,

表 1 羊肉样品来源地及饲养信息

Table 1 The geographical origin and feeding information of lamb

| 采样地区 | 农牧区划分 | 经度 | 纬度 | 海拔 | 主饲料种类 | 采样时间 | 羊只数量 |
|------------------------------|---------------------------------|---------------|--------------|--------------|---|---------------|------------------|
| Sampling site | Pastoral or agricultural region | Longitude (E) | Latitude (N) | Altitude (m) | Staple feeds | Sampling time | Sampling numbers |
| 锡林郭勒盟太仆寺旗 | 牧区 | 115°08' | 42°21' | 1280 | C ₃ 牧草(披碱草, 米蒿) | 2008.9 | 19 |
| Taipusiqi, Xilin Gol League | Pastoral region | | | | C ₃ pastures (<i>Elymus nutans</i> , <i>Artemisia</i>) | | |
| 呼伦贝尔市海拉尔区 | 牧区 | 119°40' | 49°06' | 632 | C ₃ 牧草(披碱草, 米蒿) | 2008.9 | 20 |
| Hailaer, Hulunbuir City | Pastoral region | | | | C ₃ pastures (<i>Elymus nutans</i> , <i>Artemisia</i>) | | |
| 阿拉善盟阿拉善左旗 | 牧区 | 105°23' | 37°53' | 1372 | C ₃ 和C ₄ 牧草(刺沙蓬, 须芒草) | 2008.10 | 20 |
| Alxa Zuoqi, Alxa League | Pastoral region | | | | C ₃ , C ₄ pastures (<i>Salsola ruthenica</i> , <i>Bluestem grass</i>) | | |
| 重庆市 | 农区 | 108°24' | 30°50' | 297 | C ₃ 豆科牧草(三叶草, 苜蓿) | 2008.12 | 20 |
| Chongqing City | Agricultural region | | | | C ₃ Leguminosae grasses(Clover, Alfalfa) | | |
| 山东省菏泽市 | 农区 | 116°04' | 34°48' | 39 | 玉米秸秆及C ₃ 植物 | 2008.12 | 20 |
| Heze City, Shandong Province | Agricultural region | | | | Maize and C ₃ plant | | |

冷冻干燥 24 h。将完全干燥后的样品球磨粉碎，加入沸程为 60—90℃ 的石油醚，进行索式抽提脱脂处理，收集剩余的残渣（主要成分为粗蛋白），过 100 目筛，备用。

饮水样：装入塑料瓶中，用塑封膜封口，冷冻保存，并尽快测定。

1.4 样品测定

氢同位素比率测定：采用高温裂解-同位素比率质谱法测定脱脂羊肉和饮水中 $\delta^2\text{H}$ 值。称取 0.1 mg 脱脂羊肉样品装入银杯中（6 mm×4 mm），按顺序放在酶联免疫板中，盖上盖子，在实验室的室温环境下平衡 48h。脱脂羊肉和 0.1 μL 饮水样分别通过自动进样器进入 Flash EA 1112HT 元素分析仪（Thermo Scientific, Germany）进行高温裂解生成 CO 和 H_2 ，再经过 ConFlo III 型稀释仪（Thermo Scientific, Germany），最后进入 DELTA V Advantage 质谱仪进行检测。每个样品重复测定 3 次。样品裂解温度为 1380℃， He 载气流速为 80 $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$ ， He 稀释压力为 50 kPa， H_2 参考气压力为 50 kPa。

测定时，用酪蛋白标准品（Casein IHR）作为内标准物，并用胶原蛋白标准品（Collagen ICM）和牛肝脏标准品（NIST 8414）检测仪器的精确度。氢同位素连续测定精度 $<3\%$ 。

稳定性氢同位素比率用 $\delta^2\text{H}\%$ 表示，其相对标准为 V-SMOW。计算公式为： $\delta(\%) = (\text{R}_{\text{样品}}/\text{R}_{\text{标准}} - 1) \times 1000$ （‰）。其中 R 为重同位素与轻同位素丰度比，即 $^2\text{H}/^1\text{H}$ 。

1.5 数据处理

对数据进行方差分析、Duncan's 多重比较及相关分析，并作盒须图和散点图，分析氢同位素组成的地域差异及变化；采用系统聚类分析（HCA）直观了解氢同位素指标对地域的分类结果。聚类距离为欧式距离，聚类方法为 Ward 离差平方和法，结果用聚类树形图表示；采用线性判别分析（LDA）评价氢同位素指标在羊肉产地溯源中的作用。为了保证模型的稳定性，采用“留一法”交叉检验的结果作为判别结果。数据处理采用 SPSS 16.0 软件和 DPS 软件。

2 结果

2.1 脱脂羊肉氢同位素组成的地域差异分析

脱脂羊肉的 $\delta^2\text{H}$ 值在地域间有显著性差异（图 1）。其中阿拉善盟样品的 $\delta^2\text{H}$ 值最高；菏泽市次之，呼伦贝尔市样品的 $\delta^2\text{H}$ 值最低。结合采样的地域信息（表 1），整体上， $\delta^2\text{H}$ 值有随纬度和经度的升高而降低的趋势，而与海拔的关系则不明显。对羊肉样品及其相应的饮水中 $\delta^2\text{H}$ 值进行分析，发现羊肉中 $\delta^2\text{H}$ 值显著低于其饮用水（ $P < 0.05$ ），但两者之间呈极显著性正相关（ $r = 0.72$ ， $P < 0.01$ ），即脱脂羊肉中的 $\delta^2\text{H}$ 值与其饮用水中 $\delta^2\text{H}$ 值的变化趋势一致（图 2）。可见，羊肉中氢同位素组成受地域环境的影响，与当地饮用水密切相关，可以作为地域信息的载体，用于区分羊肉的产地来源。

2.2 氢同位素指标对脱脂羊肉聚类效果的影响

为了初步判断氢同位素对羊肉产地区分效果的影响，首先利用不同地域来源脱脂羊肉中的 $\delta^{13}\text{C}$ 和 $\delta^{15}\text{N}$

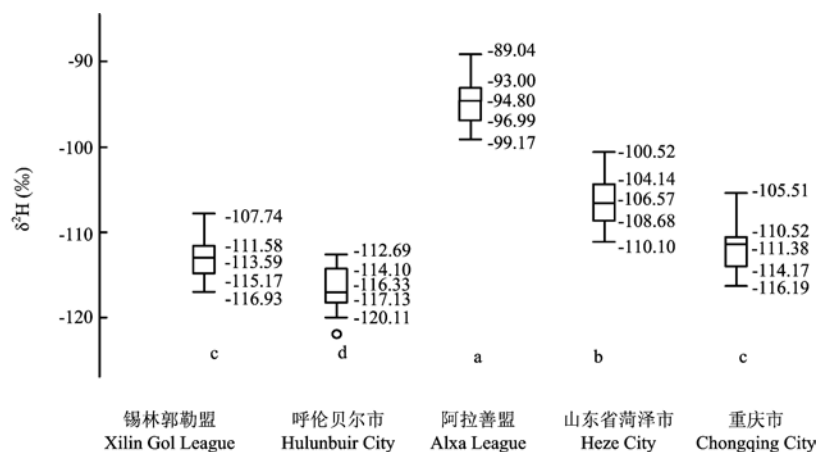


图 1 不同地域来源脱脂羊肉的 $\delta^2\text{H}$ 值

Fig. 1 The $\delta^2\text{H}$ value of defatted lamb meat from five regions

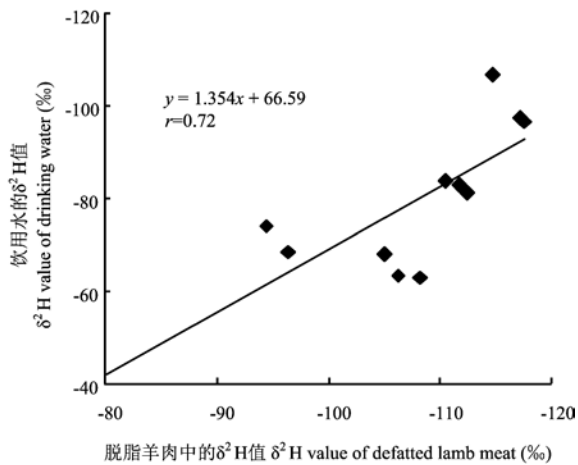


图 2 脱脂羊肉与其饮用水中的 $\delta^2\text{H}$ 值相关关系
 Fig. 2 The relationship of $\delta^2\text{H}$ value between defatted lamb meat and their drinking water

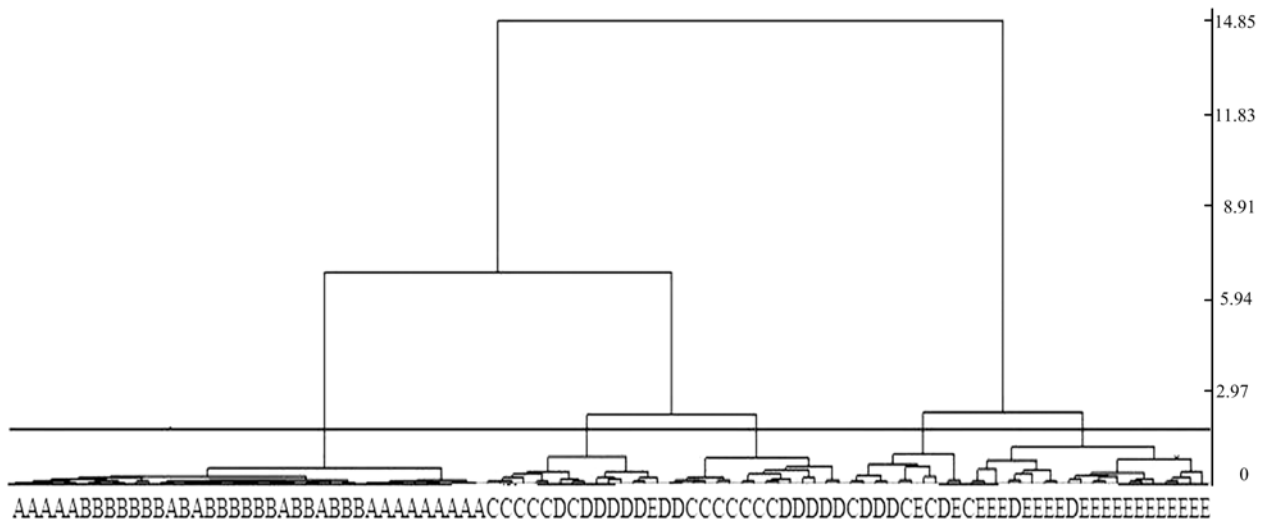
值进行系统聚类分析（图 3）。当在聚类距离 2.70 左右将树形图切断时，羊肉样品被分为 5 类。整体上，仅有重庆市的样品能单独聚为第 5 类而被区分开，其余 4 类分别包括不同地区的混合样品。可见，仅碳和氮同位素指标对地域的区分效果不是很理想。

当引入氢同位素指标，即利用脱脂羊肉中的 $\delta^{13}\text{C}$ 、 $\delta^{15}\text{N}$ 和 $\delta^2\text{H}$ 值 3 个指标进行系统聚类分析（图 4），可

以直观地看出，在聚类距离 2.90 处将树形图切断时，羊肉样本被分为 4 大类。第 1 和第 2 类为牧区的样品，其中第 1 类为锡林郭勒盟和呼伦贝尔市的样品，第 2 类全部为阿拉善盟的样品；第 3 和第 4 类为农区的样品，其中第 3 类全部为菏泽市的样品，第 4 类主要为重庆市的样品，同时包括了两个菏泽市的样品。这一分类结果与羊肉的实际来源基本一致。牧区与农区的样品完全被区分开，单个地域间的样品也能被有效地区分开。初步表明，氢同位素与碳、氮指标结合能够明显改善对羊肉产地来源的区分效果，可以作为羊肉产地判别的一项有效参考指标。

2.3 氢同位素指标对脱脂羊肉产地判别效果的影响

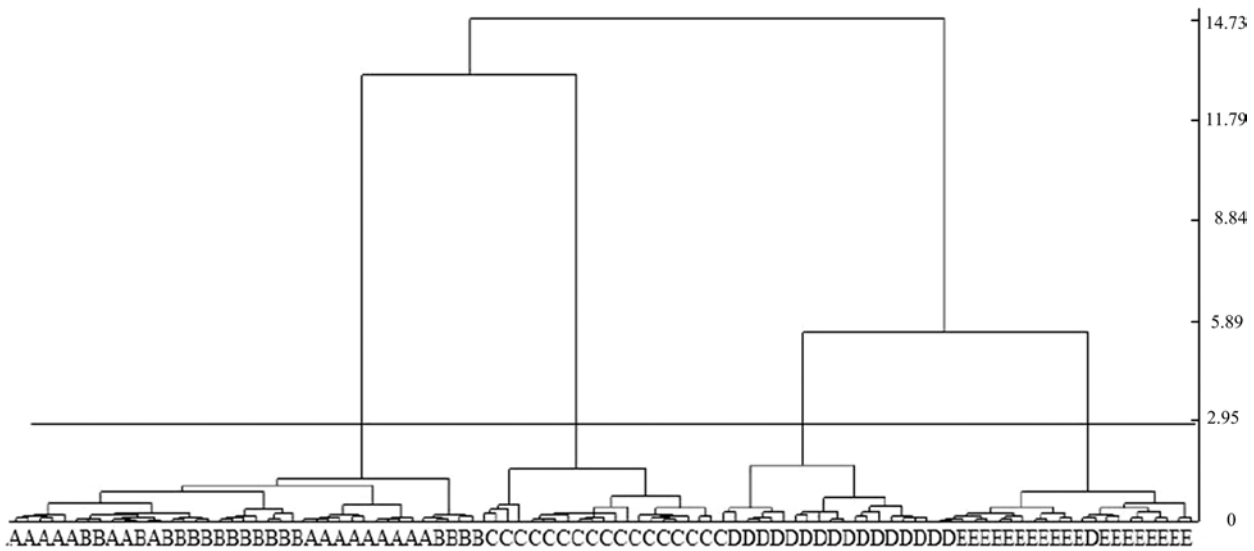
为进一步确定氢同位素对羊肉产地的判别效果，分析其在羊肉产地溯源指标体系构建中的作用，采用 Fisher 线性判别分析对不同指标的判别能力进行了比较。从表 2 可以看出，在区分农区和牧区样品时，单一的 $\delta^2\text{H}$ 值指标的判别效果很弱，其对样品的整体正确判别率明显低于单一的 $\delta^{15}\text{N}$ 值和各组合指标 ($P < 0.05$)。在区分单个地域来源的样品时， $\delta^2\text{H}$ 值指标判别效果优于 $\delta^{13}\text{C}$ 值，但 $\delta^{13}\text{C}$ 值、 $\delta^{15}\text{N}$ 值和 $\delta^2\text{H}$ 值 3 个单项指标的整体判别效果均较差，交叉检验的正确判别率低于 60%。多个指标组合则能够明显提高对单个地域的正确判别率。其中， $\delta^{13}\text{C}$ 和 $\delta^{15}\text{N}$ 指标组合将样品的整体交叉检验正确判别率提升到



A: 锡林郭勒盟; B: 呼伦贝尔市; C: 阿拉善盟; D: 菏泽市; E: 重庆市
 A: Xilin Gol League; B: Hulunbuir City; C: Alxa League; D: Chongqing City; E: Heze City

图 3 碳、氮两指标结合的聚类树形图

Fig. 3 Dendrogram of cluster analysis using $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$ values



A: 锡林郭勒盟; B: 呼伦贝尔市; C: 阿拉善盟; D: 菏泽市; E: 重庆市
 A: Xilin Gol League; B: Hulunbuir City; C: Alxa League; D: Chongqing City; E: Heze City

图 4 碳、氮和氢 3 个指标结合的聚类树形图

Fig. 4 Dendrogram of cluster analysis using $\delta^{13}\text{C}$, $\delta^{15}\text{N}$ and $\delta^2\text{H}$ values

表 2 同位素指标对羊肉产地的判别结果

Table 2 The cross validation classification results of linear discriminant analysis obtained from stable isotopes of lamb meat samples of different origins

| 地域 Region | $\delta^{13}\text{C}$ 值 $\delta^{13}\text{C}$ value | $\delta^{15}\text{N}$ 值 $\delta^{15}\text{N}$ value | $\delta^2\text{H}$ 值 $\delta^2\text{H}$ value | $\delta^{13}\text{C}$ 、 $\delta^{15}\text{N}$ 两指标组合 Combination of $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$ | $\delta^{13}\text{C}$ 、 $\delta^{15}\text{N}$ 、 $\delta^2\text{H}$ 三指标组合 Combination of $\delta^{13}\text{C}$, $\delta^{15}\text{N}$ and $\delta^2\text{H}$ |
|--|--|--|--|---|---|
| 农牧区 Agricultural region Vs Pastoral region | 农区 Agricultural region 42.5 | 牧区 Pastoral region 94.7 | 0 | 98 | 92.5 |
| | 93.2 | 100 | 100 | 92.5 | 98.3 |
| | 72.7ab | 97.9a | 59.6b | 96a | 96 ^a |
| 单个地域 Individual region | 阿拉善盟 Alxa League 65 | 锡林郭勒盟 Xilin Gol League 21.1 | 呼伦贝尔市 Hulunbuir City 70 | 菏泽市 Heze City 25 | 重庆市 Chongqing City 65 |
| | 21.1 | 63.2 | 21.6 | 63.2 | 78.9 |
| | 70 | 20 | 65.0 | 75 | 75.0 |
| | 25 | 75 | 70.0 | 80 | 90 |
| | 65 | 95 | 40.0 | 95 | 100 |
| | 49.5c | 57.6bc | 59.6bc | 80.8ab | 88.9a |

不同小写字母表示在 0.05 水平上有显著性差异 Values followed by the different lowercase letters are significantly different ($P < 0.05$)

80.8%。在引入 $\delta^2\text{H}$ 值后，样品的整体交叉检验正确判别率进一步提高到 88.9%，尤其是锡林郭勒盟、呼伦贝尔市和阿拉善盟 3 个牧区之间，菏泽市和重庆市两个农区之间样品的误判数明显降低（表 3）。这反映了 $\delta^2\text{H}$ 值在区分饲喂体系和生产方式类似的地区样品方面效果显著。可见，利用 $\delta^2\text{H}$ 、 $\delta^{13}\text{C}$ 和 $\delta^{15}\text{N}$ 值对羊肉产地进行判别是有效的，建立的判别模型依

次如下：

$$Y_{(\text{锡林郭勒盟})} = -1098.86 - 8.28 \delta^{13}\text{C} + 23.99 \delta^{15}\text{N} - 16.31 \delta^2\text{H};$$

$$Y_{(\text{呼伦贝尔市})} = -1168.54 - 8.59 \delta^{13}\text{C} + 25.07 \delta^{15}\text{N} - 16.79 \delta^2\text{H};$$

$$Y_{(\text{阿拉善盟})} = -809.13 - 6.91 \delta^{13}\text{C} + 23.43 \delta^{15}\text{N} - 13.82 \delta^2\text{H};$$

$$Y_{\text{(菏泽市)}} = -933.63 - 7.81 \delta^{13}\text{C} + 18.39 \delta^{15}\text{N} - 15.20 \delta^2\text{H};$$

$$Y_{\text{(重庆市)}} = -1011.64 - 8.88 \delta^{13}\text{C} + 15.10 \delta^{15}\text{N} - 15.81 \delta^2\text{H}.$$

对来自这 5 个地区的盲样进行鉴别归类时, 即可将待测定样品的变量值分别代入上述判别模型中, 比较 5 个地域 Y 值大小, 盲样归属于 Y 值最大的地域。

此外, 对 $\delta^{13}\text{C}$ 、 $\delta^{15}\text{N}$ 和 $\delta^2\text{H}$ 组合指标的判别函

数系数和方差贡献率进行分析, 前两个判别函数对样本的总体方差贡献率达 99.7%, 其中判别函数 1 (方差贡献率 55.5%) 主要表征 $\delta^2\text{H}$ 值的信息; 判别函数 2 (方差贡献率 44.2%), 主要表征 $\delta^{15}\text{N}$ 值的信息 (表 4)。表明 $\delta^2\text{H}$ 指标对羊肉产地判别模型的贡献大于 $\delta^{15}\text{N}$ 和 $\delta^{13}\text{C}$ 指标, 是羊肉产地溯源的一项有效指标。

表 3 同位素组合指标判别羊肉样品的产地归属结果

Table 3 Origin assignment of lamb meat from different regions by the combination of stable isotope indicators

| 组合指标 Combination of indicators | 原属类别 Original group | 预测归属类别 Predicted group membership | | | | | 合计 Total |
|--|------------------------|-----------------------------------|----|----|----|----|-------------|
| | | XL | HL | AL | HZ | CQ | |
| $\delta^{13}\text{C}$ 和 $\delta^{15}\text{N}$ $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$ | XL | 12 | 7 | 0 | 0 | 0 | 19 |
| | HL | 5 | 15 | 0 | 0 | 0 | 20 |
| | AL | 1 | 1 | 18 | 0 | 0 | 20 |
| | HZ | 0 | 0 | 1 | 16 | 3 | 20 |
| | CQ | 0 | 0 | 0 | 1 | 19 | 20 |
| $\delta^{13}\text{C}$ 、 $\delta^{15}\text{N}$ 和 $\delta^2\text{H}$ $\delta^{13}\text{C}$, $\delta^{15}\text{N}$ and $\delta^2\text{H}$ | XL | 15 | 4 | 0 | 0 | 0 | 19 |
| | HL | 5 | 15 | 0 | 0 | 0 | 20 |
| | AL | 0 | 0 | 20 | 0 | 0 | 20 |
| | HZ | 0 | 0 | 0 | 18 | 2 | 20 |
| | CQ | 0 | 0 | 0 | 0 | 20 | 20 |

XL: 锡林郭勒盟; HL: 呼伦贝尔市; AL: 阿拉善盟; HZ: 菏泽市; CQ: 重庆市

XL: Xilin Gol League; HL: Hulunbuir City; AL: Alxa League; CQ: Chongqing City; HZ: Heze City

表 4 $\delta^{13}\text{C}$ 、 $\delta^{15}\text{N}$ 、 $\delta^2\text{H}$ 指标组合的判别函数系数及累计方差贡献率

Table 4 Discriminant function coefficients and total variance explained by the combination of $\delta^{13}\text{C}$, $\delta^{15}\text{N}$ and $\delta^2\text{H}$ indicators

| 同位素指标 Isotope indicator | 判别函数标准化系数 Standardized canonical discriminant function coefficients | | |
|--|---|-----------------|-----------------|
| | 函数 1 Function 1 | 函数 2 Function 2 | 函数 3 Function 3 |
| $\delta^{13}\text{C}$ | 0.372 | -0.018 | 0.929 |
| $\delta^{15}\text{N}$ | 0.334 | 0.943 | -0.149 |
| $\delta^2\text{H}$ | 0.815 | -0.497 | -0.332 |
| 方差贡献率 Variance contribution (%) | 55.5 | 44.2 | 0.3 |
| 累计方差贡献率 Accumulated contribution of variance | 55.5 | 99.7 | 100 |

3 讨论

3.1 脱脂羊肉中氢同位素组成与地域的关系

脱脂羊肉中的 $\delta^2\text{H}$ 值在 5 个地域间有显著性差异, 主要与当地饮用水中 $\delta^2\text{H}$ 值高度相关, 并且有随地域纬度和经度增加而减小的趋势, 与前人研究结果基本

一致。Perini 等^[17]研究发现来自意大利 7 个地区脱脂羊肉样品中的 $\delta^2\text{H}$ 值与当地雨水中的 $\delta^2\text{H}$ 值显著相关 ($r=0.66$, $P=0.04$), 并受离海距离和地域纬度的影响。国际上多数研究也表明动物组织中的 $\delta^2\text{H}$ 值具有一定的纬度效应和内陆效应, 呈现出随地域纬度的升高和离海距离的增加而降低的变化规律^[18]。此外,

Hobson等^[19]研究发现在厄瓜多尔安第斯山脉 400 m 以上的区域,蜂雀尾羽中的 $\delta^2\text{H}$ 值与海拔高度呈极显著性负相关,随高度的增加而降低($R^2=0.53$, $P < 0.001$)。然而, Kelly等^[20]和郭波莉等^[21]等研究则表明动物组织 $\delta^2\text{H}$ 值与地域高度的相关性不显著。本研究中羊肉 $\delta^2\text{H}$ 值的高度效应也不明显,这可能是由于影响氢同位素的各种效应并不是孤立的,常常是多种因素共同控制,或者是一种效应掩盖另一种效应的结果,从而导致 $\delta^2\text{H}$ 值的高度效应结论不一致。动物组织水除来源于当地饮水外,部分还来源于饲料,其分馏作用同时受地域环境(季节变化、湿度、降水量、温度等)及组织代谢等多种因素的影响。 Camin等^[22]研究发现同一地域不同季节脱脂羊肉中的 $\delta^2\text{H}$ 差异显著,分析可能是由于冬季羊主要食用干草,体内水主要来自当地饮水,而夏秋季节羊主要食用新鲜青草,体内水主要来自于植物水,植物水中的 $\delta^2\text{H}$ 值高于当地饮水。此外,干旱地区水分蒸发强烈,会发生 ^2H 的浓缩作用,这可能导致阿拉善盟样品中的 $\delta^2\text{H}$ 值远高于其它地区。目前动物组织氢同位素组成与其饮水的相关性已得到证实,但与饮食(饲料、饮水)之间的分馏作用研究较少,受环境因素影响的变化机理尚不十分明确,需在今后进一步探讨。

3.2 氢同位素指标在羊肉产地来源判别中的应用

聚类分析和判别分析结果均表明,氢同位素与碳、氮同位素指标结合能够明显改善对羊肉产地来源的判别效果,它可使 $\delta^{13}\text{C}$ 、 $\delta^{15}\text{N}$ 指标对羊肉产地的正确判别率由 80.8% 提高到 88.9%。此外, $\delta^2\text{H}$ 值指标对羊肉产地来源判别模型的贡献大于 $\delta^{15}\text{N}$ 和 $\delta^{13}\text{C}$ 值。这反映 $\delta^2\text{H}$ 值能更好地反映地域来源的信息,与地域关系更为密切。前人研究也表明 $\delta^{13}\text{C}$ 值主要反映饲料的组成和来源信息^[23], $\delta^{15}\text{N}$ 值主要反映动物饮食营养、土壤状况、农业施肥等信息^[24],而 $\delta^2\text{H}$ 值则主要与当地降水相关,反映地域的信息^[25]。此外,在对农、牧区样品进行区分时,单一的 $\delta^2\text{H}$ 值指标的判别效果明显弱于 $\delta^{15}\text{N}$ 值和 $\delta^{13}\text{C}$ 值。这是因为农牧区样品的差异主要是由于饲料组成,农业生产方式(集约式或粗放式),以及施肥类型(化肥或有机肥)等不同而造成^[16]。可见,利用 $\delta^2\text{H}$ 值追溯和鉴别食品产地来源时,依据地理位置(经度、纬度、海拔)和气候环境信息划分采样区域,以及确定溯源范围更为合理。判别结果同时表明,牧区锡林郭勒盟和呼伦贝尔市两地的样品有部分交叉,这一方面可能是由于样品量较小,所建立的

判别模型尚不稳定,另一方面是由于这两个地域羊的饲喂体系和气候环境相似,反映出 $\delta^2\text{H}$ 指标在区分来源于饲喂体系和气候环境相似地域的产品上存在局限。前人也有报道利用化学成分分析(脂肪酸组成和含量,矿物元素组成等)鉴别食品产地来源^[9,26]。此类分析方法简便,成本较低,但是食品中的化学成分容易受加工工艺、贮存条件等因素影响而发生变化,导致溯源结果的不确定性。而稳定性同位素则不随化学添加剂的改变而改变,能提供可靠真实的信息,但是设备昂贵,分析成本较高。可见,各种溯源方法各有缺陷,而多种方法、多种参数的结合分析才能更为准确地对产地进行溯源。因此,在今后的研究中,还需进一步扩大采样量,并结合与地质关系较为密切的S和Sr等同位素^[27]、多矿物元素及有机成分等指标,进一步提高对地域来源的判别,并建立一套适于羊肉产地溯源的同位素指标体系。

4 结 论

稳定性氢同位素能够提供有效的地域信息,可作为追溯和鉴定羊肉产地来源的一项有效指标。

References

- [1] Kelly S, Heaton K, Hoogewerff J. Tracing the geographical origin of food: The application of multi-element and multi-isotope analysis. *Trends in Food Science and Technology*, 2005, 16(12): 555-567.
- [2] Lees M. *Food Authenticity and Traceability*. Cambridge, England, 2003.
- [3] Rossmann A. Determination of stable isotope ratios in food analysis. *Food Reviews International*, 2001, 17(3): 347-381.
- [4] Padovan G J, Jong D D, Rodrigues L P, Marchini J S. Detection of adulteration of commercial honey samples by the $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ isotopic ratio. *Food Chemistry*, 2003, 82: 633-636.
- [5] Simpkins W A, Patel G, Harrison M, Goldberg G. Stable carbon isotope ratio analysis of Australian orange juices. *Food Chemistry*, 2000, 70: 385-390.
- [6] Camin F, Larcher R, Perini M, Bontempo L, Bertoldi D, Gagliano G, Nicolini G, Versini G. Characterisation of authentic Italian extra-virgin olive oils by stable isotope ratios of C, O and H and mineral composition. *Food Chemistry*, 2010, 118: 901-909.
- [7] Camin F, Perini M, Colombari G, Bontempo L, Versini G. Influence of dietary composition on the carbon, nitrogen, oxygen and hydrogen stable isotope ratios of milk. *Rapid Communication Mass Spectrometry*, 2008, 22: 1690-1696.

- [8] Camin F, Wietzerbin K, Cortes A B, Haberhauer G, Lees M L, Versini G. Application of multi-element stable isotope ratio analysis to the characterization of French, Italian, and Spanish cheeses. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2004, 52: 6592-6601.
- [9] Bettina M F, Gremaud G, Hadorn R, Kreuzer M. Geographic origin of meat—element of an analytical approach to its authentication. *European Journal of Food Technology*, 2005, 221: 493-503.
- [10] Schmidt O, Quilter J M, Bahar B, Moloney A P, Scrimgeour C M, Begley I S, Monahan F J. Inferring the origin and dietary history of beef from C, N and S stable ration analysis. *Food Chemistry*, 2005, 91:545-549.
- [11] Nakashita R, Suzuki Y, Akamatsu F, Iizumi Y, Korenaga T, Chikaraishi Y. Stable carbon, nitrogen, and oxygen isotope analysis as a potential tool for verifying geographical origin of beef. *Analytica Chimica Acta*, 2008, 617: 148-152.
- [12] Martin I G, Pérez C G, Méndez J H, Macias E M, Poveda F S. Use of isotope analysis to characterize meat from Iberian-breed swine. *Meat Science*, 1999, 52: 437-441.
- [13] Franke B M, Koslitz S, Micaux F, Piantini U, Maury V, Pfammatter E, Wunderli S, Gremaud G, Bosset J O, Hadorn R, Kreuzer M. Tracing the geographic origin of poultry meat and dried beef with oxygen and strontium isotope ratios. *Europe Food Research Technology*, 2008, 226:761-769.
- [14] Piasentier E, Valusso R, Camin F, Versini G. Stable isotope ratio analysis for authentication of lamb meat. *Meat Science*, 2003, 64(3): 239-247.
- [15] Heaton K, Kelly S D, Hoogewerff J, Woolfe M. Verifying the geographical origin of beef: The application of multi-element isotope and trace element analysis. *Food Chemistry*, 2008, 107: 506-515.
- [16] 孙淑敏, 郭波莉, 魏益民, 樊明涛. 羊组织中碳、氮同位素组成及地域来源分析. *中国农业科学*, 2010, 43(8):1670-1676.
Sun S M, Guo B L, Wei Y M, Fan M T. Analysis of stable carbon and nitrogen isotope compositions and geographical origins of sheep tissues. *Scientia Agricultura Sinica*, 2010, 43(8):1670-1676. (in Chinese)
- [17] Perini M, Camin F, Bontempo L, Rossmann A, Piasentier E. Multielement (H, C, N, O, S) stable isotope characteristics of lamb meat from different Italian regions. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, 2009, 23: 2573-2585.
- [18] Rubenstein D R, Hobson K A. From birds to butterflies: animal movement patterns and stable isotopes. *Trends in Ecology and Evolution*, 2004, 19(5): 256-263.
- [19] Hobson K A, Wassenaar L I, Milá B, Lovette I, Dingle C, Smith T B. Stable isotope as indicators of altitudinal distributions and movements in an Ecuadorean hummingbird community. *Oecologia*, 2003, 136: 302-308.
- [20] Kelly J F, Atudorei V, Sharp Z D, Finch D M. Insights into Wilson's Warbler migration from analyses of hydrogen stable-isotope ratios. *Oecologia*, 2002, 130: 216-221.
- [21] 郭波莉, 魏益民, Kelly S D, 潘家荣, 魏 帅. 稳定性氢同位素分析在牛肉产地溯源中的应用. *分析化学*, 2009, 37: 1333-1336.
Guo B L, Wei Y M, Kelly S D, Pan J R, Wei S. Application of stable hydrogen isotope analysis in beef geographical origin traceability. *Chinese Journal of Analytical Chemistry*, 2009, 37: 1333-1336. (in Chinese)
- [22] Camin F, Bontempo L, Heinrich K, Horacek M, Kelly S D, Schlicht C, Thomas F, Monahan F J, Hoogewerff J, Rossmann A. Multi-element (H, C, N, S) stable isotope characteristics of lamb meat from different European regions. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 2007, 389: 309-320.
- [23] Smet D S, Balcaen A, Claeys E, Boeckx P, Cleemput O V. Stable carbon isotope analysis of different tissues of beef animal in relation to their diet. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, 2004, 18:1227-1232.
- [24] Schwertl M, Auerswald K, Schäufele R, Schnyder H. Carbon and nitrogen stable isotope composition of cattle hair: ecological fingerprints of production systems? *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 2005, 109: 153-165.
- [25] Schwägele F. Traceability from a European perspective. *Meat Science*, 2005, 71: 164-173.
- [26] Renou J P, Deponge C, Gachon P, Bonnefoy J C, Coulon J B, Gareld J P, Verite R, Ritzf P. Characterization of animal products according to geographic origin and feeding diet using nuclear magnetic resonance and isotope ratio mass spectrometry: cow milk. *Food Chemistry*, 2004, 85: 63-66.
- [27] Almeida C M, Teresa M, Vasconcelos S D. ICP-MS determination of strontium isotope ratio in wine in order to be used as a fingerprint of its regional origin. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, 2001, 16: 607-611.