应用 C、N 稳定同位素比率分析鉴别马铃薯主食产品的真实性

范　鑫，张秉诚，赵大云

（上海交通大学农业与生物学院，上海　200240）

摘要：为区分马铃薯主食产品的真伪性，本文采用稳定同位素比率技术对添加三种作物的主食产品进行了分析，即采用元素分析-同位素比率质谱（elemental analysis-isotope ratio mass spectrometry，EA-IRMS）检测了梯度添加马铃薯、红薯和玉米的主食馒头和面条的碳和氮元素的稳定同位素比值，即 δ^{13}C、δ^{15}N. 首先，对原料粉的 δ^{13}C、δ^{15}N 进行方差分析，发现三种作物全粉的 δ^{13}C、δ^{15}N 具有显著性差异，说明 δ^{13}C、δ^{15}N 作为区分三种产品的理论可行性；然后，分别对添加了不同原料的三种主食产品的 δ^{13}C、δ^{15}N 进行判别分析和聚类分析，判别图显示三者处于不同的分布区域，聚类分析显示马铃薯产品为一类，而红薯和玉米产品属于另一类。研究结果表明，EA-IRMS 技术可以实现对马铃薯主食产品与添加了其他两种作物的主食产品进行鉴别分析。

关键词：食品加工技术；真实性检测；马铃薯主食；元素分析-同位素比率质谱

中图分类号：TS207.7　　**文献标识码：**A　　**文章编号：**1674-2850(2019)04-0667-07

Authenticity determination of potato in staple food products by the ratio of stable isotope C and N

FAN Xin, ZHANG Bingcheng, ZHAO Dayun

(*School of Agriculture and Biology*, *Shanghai Jiao Tong University*, *Shanghai*　200240, *China*)

Abstract: In order to determine the authenticity of potato in staple food products, which may be adulterated with sweet potato and/or corn, two major staple foods, i.e. steamed bread and noodle with a gradient addition of potato, sweet potato and maize were determined by elemental analysis-isotope ratio mass spectrometry (EA-IRMS). At first, the stable isotope ratios of carbon and nitrogen elements, i.e. δ^{13}C, δ^{15}N in the raw materials were detected and analyzed via analysis of variance (ANOVA). The results of ANOVA on δ^{13}C, δ^{15}N of raw material powder indicated that there were significant differences of the δ^{13}C, δ^{15}N among three kinds of crop flour, which showed great potential for EA-IRMS methodology. Then, the discriminant analysis and cluster analysis were carried out to categorize the three kinds of staple food products. As a result, the discriminant diagram showed that the three kinds of products were in different distribution regions, and the cluster analysis showed that the potato products were in one category while the sweet potato and corn products were in the other category. The investigation reveals that EA-IRMS technology can be utilized to determine the authenticity of potato in the staple food products adulterated with other two crops.

Key words: food processing technology; authentic determination; potato stable food; elemental analysis-isotope ratio mass spectrometry (EA-IRMS)

0　引言

2015 年我国启动了“马铃薯主食化”战略，意在将马铃薯制作成主食产品，以提高马铃薯消费量、

作者简介：范鑫（1994—），男，硕士研究生，主要研究方向：食品分析

通信联系人：赵大云，副教授，主要研究方向：功能性食品. E-mail: dyzhao@sjtu.edu.cn

优化居民的膳食结构[1]。战略实施以来，市场上出现了各种马铃薯产品，由于马铃薯不耐储藏，而且运输成本较高，因而厂家在生产马铃薯产品时都会选择以加入马铃薯全粉的方式进行生产。马铃薯全粉成本较高，相比于红薯粉、玉米粉等其他谷物粉类，用马铃薯全粉制作的产品价格也较高，在这种情况下，就会有不法商家为了降低成本，使用其他低价粉代替马铃薯全粉进行生产。目前，国标中尚未建立马铃薯产品鉴别的检测方法，因而有必要开发一种可行的检测方法。

由于自然界的生物在进行生长代谢时会受到环境和气候的影响，导致其自身的同位素组成发生分馏，因此各种不同的生物体以及不同地区的同种生物体其同位素自然丰度是有差异的，这种差异使得利用同位素甄别纯物质和掺杂物质具有可行性[2]。元素分析-同位素比率质谱仪作为运用这项技术的设备，在食品真伪鉴定、原料溯源、地球化学等领域中的应用较为常见。近年来，EA-IRMS 作为一种检测食品掺假和溯源的方法运用十分广泛，目前已被用于检测蜂蜜[3]、牛奶[4]、果汁[5]、精油[6]、稻米[7]、酒类[8]等。如 RICHLING 等[9]利用元素分析-燃烧/高温分解-同位素比值质谱检测样品中的 C、O 同位素建立了咖啡因饮品掺假检测的方法；CAMIN 等[10]通过对 H、C、N、S 同位素稳定比值的检测实现了对羊肉产地溯源的判别；CAMIN 等[11]在前人的基础上利用 C、O、H 稳定同位素比值实现了橄榄油的产地溯源和掺假检测；PERINI 等[12]通过对酒中乙醇的 $\delta^{18}O$ 的测定实现了对酒类掺假检测。

本文旨在探讨稳定同位素（$^{13}C/^{12}C$，$^{15}N/^{14}N$）用于某些马铃薯主食产品真实鉴定的潜力。应用判别分析和聚类分析对三种谷物粉不同添加量的馒头或面条样品进行鉴别。

1 实验材料与方法

1.1 仪器与装置

元素分析-同位素质谱仪：型号 Vario EL III-Isoprime，购自德国 Elementar 公司，配有高温燃烧炉，吸附/解吸装置，高灵敏度热传导检测器（thermal conductivity detector，TCD），Isoprime 同位素检测装置；M5X 百万分之一克电子天平，购自瑞士 Mettler Toledo 公司。

1.2 试剂与原料

三氧化钨、高纯线状铜、银棉，均购自上海艾利蒙塔贸易有限公司；高纯 He，浓度≥99.999%，购自上海四季气体设备有限公司；高纯 N_2、O_2，浓度≥99.999%，均购自上海五钢气体有限责任公司；高纯 CO_2，浓度≥99.995%，购自上海成功气体工业有限公司；酪蛋白标准品，购自英国 Elemental Microanalysis 公司；玻璃碳、石英棉，均购自美国 Thermo 公司。

金沙河家用小麦粉，购自河北金沙河面业集团有限责任公司；酵母，购自安琪酵母股份有限公司；马铃薯全粉，购自内蒙古希森马铃薯全粉有限公司；红薯全粉，购自河南天豫薯业股份有限公司；玉米全粉，购自哈尔滨兴利米制品有限公司。

1.3 样品处理与检测

1.3.1 样品制作与预处理

按照传统方法制作全粉含量分别为 5%、10%和 15%的马铃薯馒头、红薯馒头和玉米馒头，再制作相同梯度浓度的马铃薯面条、红薯面条和玉米面条。将所有样品捏碎，然后放入 65℃烘箱中烘 48～72 h，取出后用磨粉机粉碎，再过 60 目筛，然后装入自封袋，放进干燥箱，等待备用。

1.3.2 上样与检测

检测同位素使用的设备为元素分析-同位素比率质谱仪，具体操作步骤如下：称取 8 mg 样品装入锡

舟，然后投入元素分析仪的进样槽，进行检测。

实验参数：元素分析仪条件为氧化管填充三氧化钨，温度 1 150℃；还原管填充线状铜及银棉，温度 810℃；高纯 He 作为载气及参比气。稳定同位素质谱仪条件为应用连续流进样系统，CO_2、N_2 作为参比气，USGS40（L-glutamic acid）作为标准品（δ^{13}C VPDB=(−26.39±0.04)‰，δ^{15}N AIR=(−4.52±0.06)‰）对参比气 CO_2、N_2 进行校准。

稳定性同位素比率计算公式为

$$\delta(‰)=\left(\frac{R_{样品}}{R_{标准品}}-1\right)\times 1\,000,$$

其中，R 为所测物中重同位素与轻同位素的丰度比，即 $^{13}C/^{12}C$、$^{15}N/^{14}N$.

2 结果与分析

2.1 不同种类作物同位素比值的比较

植物按照 CO_2 固定的方式可以分为 C3 植物和 C4 植物，它们的 δ^{13}C 差别很大，小麦、马铃薯和红薯都属于 C3 植物，玉米属于 C4 植物，通过检测 δ^{13}C 可以对玉米和薯类作物进行区分；δ^{15}N 与物种、生长环境、施肥及海拔有关，通过检测 δ^{13}C 和 δ^{15}N 可以实现不同物种之间的区分。

表 1 为马铃薯、红薯和玉米三种植物全粉的 δ^{13}C、δ^{15}N 同位素汇总。由表 1 可以看出，玉米的 δ^{13}C 远大于马铃薯和红薯的 δ^{13}C，这是由于 C4 植物的 δ^{13}C 大于 C3 植物，C 同位素比值按照从大到小的顺序依次是玉米、马铃薯、红薯，且三种植物的 C 同位素组成之间均具有显著性差异（$P<0.05$）。三种植物中 δ^{15}N 也是玉米全粉的 δ^{15}N 值最大，为 2.09‰，马铃薯全粉的 δ^{15}N 值稍小，为−0.92‰，最小的为红薯，其 δ^{15}N 为−1.45‰，同样这三种植物的 N 同位素组成也具有显著性差异。

表 1 三种作物粉原料的 δ^{13}C 和 δ^{15}N 同位素比率值对比（‰）

Tab. 1 Comparison of δ^{13}C and δ^{15}N isotope ratio value from three plant species as added ingredient (‰)

参数	马铃薯（n=4）				红薯（n=4）				玉米（n=4）			
	mean	SD	max	min	mean	SD	max	min	mean	SD	max	min
δ^{13}C	−25.76^{b}	0.02	−25.72	−25.78	−26.41^{c}	0.03	−26.38	−26.45	−11.29^{a}	0.05	−11.24	−11.38
δ^{15}N	−0.92^{e}	0.05	−0.84	−1.01	−1.45^{d}	0.11	−1.28	−1.61	2.09^{a}	0.09	2.22	1.97

注：表中数据为 4 个样品 2 次重复实验的平均值，同一行数据后的小写字母表示经方差检验后发现差异具有显著性（$P<0.05$）；SD 为标准差，下同

通过比较三种作物粉的 C、N 同位素比值，可以发现不同物种间其同位素差异较大，可以用来检测产品的种类，因此对以三种作物为原料加工的馒头和面条产品分别进行检测，并进行判别分析和聚类分析。

2.2 添加三种作物粉加工的馒头产品的区分

2.2.1 判别分析

表 2 为添加量为 5%、10%和 15%的馒头样品的 δ^{13}C 和 δ^{15}N 值，马铃薯馒头的 δ^{13}C 值随着马铃薯添加量的增加而增大，从−27.57‰上升到−27.24‰；马铃薯馒头的 δ^{15}N 值随添加量的增大而增大，5%添加量的马铃薯馒头的 δ^{15}N 值最小，为−0.44‰，而 15%添加量的马铃薯馒头的 δ^{15}N 值最大，为−0.37‰.

红薯馒头的 δ^{13}C 值随着红薯添加量的增加而增大，当红薯粉添加量为 5%时，δ^{13}C 值为−27.47‰，红薯粉添加量达到 15%时，δ^{13}C 值为−27.14‰；而 δ^{15}N 值的增减趋势具有不确定性，5%的红薯馒头 δ^{15}N 值为−1.17‰，添加量为 10%时 δ^{15}N 达到最大值−1.07‰，而后在 15%的添加量水平又减小到−1.20‰，但

不同红薯全粉添加量的馒头 δ^{15}N 值均小于马铃薯馒头。

表 2　三种作物粉不同添加量加工馒头产品的 δ^{13}C 和 δ^{15}N 同位素比率值对比（‰）

Tab. 2　Comparison of δ^{13}C and δ^{15}N isotope ratio value in three kinds of the steamed breads with different content of plant flour granules addition (‰)

样品	δ^{13}C	SD	δ^{15}N	SD
5%马铃薯馒头	−27.57	0.02	−0.44	0.00
10%马铃薯馒头	−27.46	0.15	−0.39	0.05
15%马铃薯馒头	−27.24	0.01	−0.37	0.00
5%红薯馒头	−27.47	0.02	−1.17	0.00
10%红薯馒头	−27.37	0.01	−1.07	0.01
15%红薯馒头	−27.14	0.04	−1.20	0.03
5%玉米馒头	−26.79	0.04	−1.12	0.04
10%玉米馒头	−26.24	0.01	−0.98	0.07
15%玉米馒头	−25.58	0.07	−0.87	0.10

玉米馒头的 δ^{13}C 值也是随着玉米全粉添加量的增加而增大，且增大的速度大于马铃薯馒头和红薯馒头增长的速度，从−26.79‰增加到−25.58‰，这是由于玉米属于 C4 植物，马铃薯和红薯属于 C3 植物，C4 植物的 δ^{13}C 值要远大于 C3 植物，因此增速快，区分明显；玉米馒头的 δ^{15}N 值随着玉米全粉添加量的增加而增大，从−1.12‰增长到−0.87‰.

图 1 为三种作物馒头的二维分布图，马铃薯馒头处于图中左上方，在其正下方的是红薯馒头，红薯作为 C3 植物，其 δ^{13}C 的值与马铃薯馒头相似，但由于 δ^{15}N 的值要比马铃薯小，因而可以被区分。在分布图中，红薯馒头的右边是玉米馒头，由于玉米是 C4 植物，添加的玉米粉量越大，馒头的 δ^{13}C 值越大，区分也就越明显，因此利用 δ^{13}C、δ^{15}N 两种同位素可以将马铃薯馒头与其他作物馒头进行区分，不过同为 C3 植物，随着红薯添加量的增加，马铃薯馒头和红薯馒头会有所重叠，这个时候就需要借助其他同位素如 δD、δ^{18}O 来辅助进行分类，但红薯馒头由于其独特的感官品质，在其蒸煮熟化后会发黑，且随着添加量的增加颜色会加深，从而导致其作为掺假作物的可能性大大降低，消费者只需要通过感官鉴定就可以判断是否用红薯替代了马铃薯。

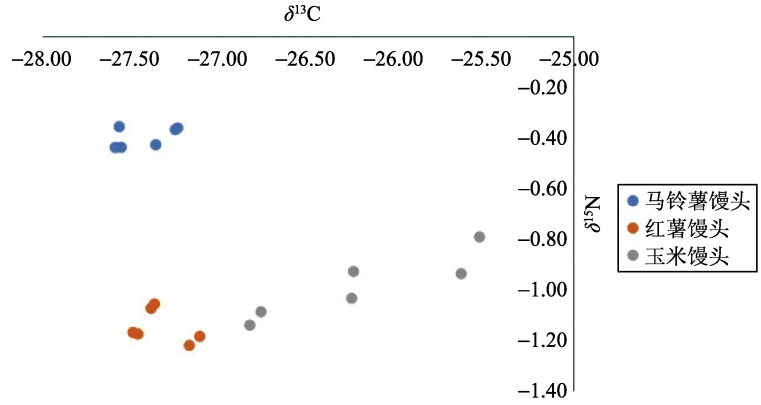


图 1　三种作物粉不同添加量加工馒头的同位素比率值的二维分布图

Fig. 1　Two-dimensional distribution map of isotope ratio in three kinds of steamed breads with different content of plant flour granules addition

2.2.2　聚类分析

将三种作物馒头进行系统聚类分析，使用组间联接的聚类方法，聚类结果如图 2 所示。

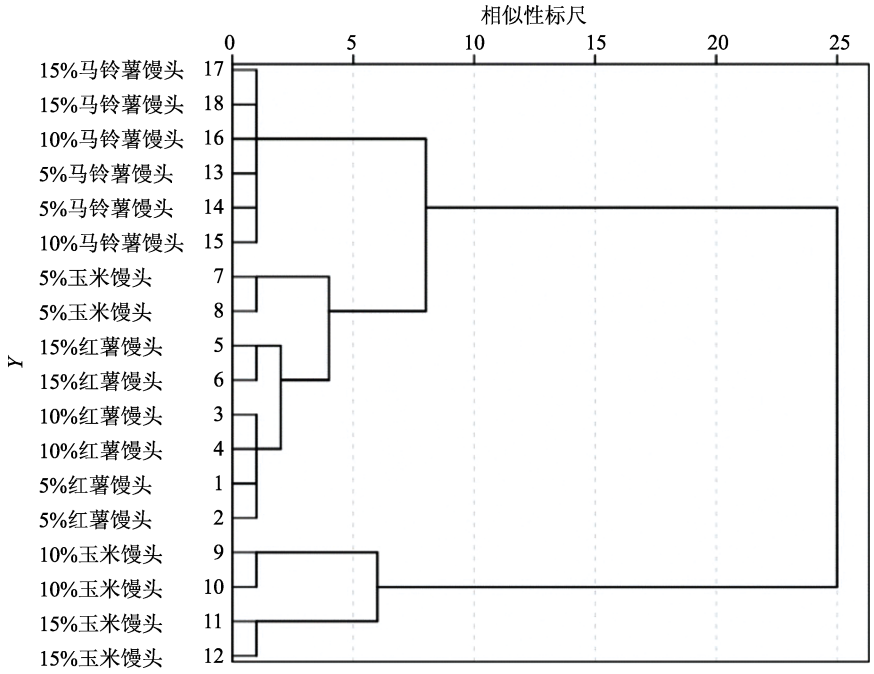


图 2 三种作物粉不同添加量加工馒头产品的同位素比率值的聚类图

Fig. 2 Cluster diagram of isotope ratio in three kinds of steamed breads with different content of plant flour granules addition

由图 2 可以看出，若将样品分为三类，则马铃薯馒头属于第一类，第二类中除了红薯馒头还有两个 5%玉米馒头样品，第三类为 10%和 15%的玉米馒头，虽然玉米馒头和红薯馒头之间有重叠，但这对于区分是否是马铃薯馒头不影响，因而可以利用 C、N 同位素区分马铃薯、红薯和玉米馒头。

2.3 添加三种作物粉加工的面条产品的区分

2.3.1 判别分析

表 3 是全粉添加量为 5%、10%和 15%的面条样品的 C、N 同位素比值，马铃薯面条的 δ^{13}C 值落在–27.63‰～–27.43‰的区间内且随着马铃薯添加量的增加而上升，全粉添加量为 15%的马铃薯面条值比同添加量的玉米面条低得多；马铃薯面条的 δ^{15}N 值要远大于红薯面条和玉米面条，且随着马铃薯全粉添加量的增加而上升，δ^{15}N 从–0.60‰（5%马铃薯面条）增长到–0.46‰（15%马铃薯面条）.

表 3 三种作物粉不同添加量加工面条产品的 δ^{13}C 和 δ^{15}N 同位素比率值对比（‰）

Tab. 3 Comparison of δ^{13}C and δ^{15}N isotope ratio value of three kinds of noodles with different content of plant flour granules addition (‰)

样品	δ^{13}C	SD	δ^{15}N	SD
5%马铃薯面条	–27.63	0.05	–0.60	0.04
10%马铃薯面条	–27.54	0.04	–0.48	0.05
15%马铃薯面条	–27.43	0.05	–0.46	0.08
5%红薯面条	–27.32	0.01	–1.21	0.01
10%红薯面条	–27.25	0.00	–1.28	0.01
15%红薯面条	–27.22	0.02	–1.38	0.01
5%玉米面条	–26.65	0.04	–1.03	0.00
10%玉米面条	–25.91	0.03	–0.89	0.01
15%玉米面条	–25.56	0.08	–0.84	0.08

红薯面条的 $\delta^{13}C$ 值随着红薯全粉添加量的增加而增大，从–27.32‰缓慢增长到–27.22‰；而 $\delta^{15}N$ 的值随着红薯全粉添加量的增大而减小，从最大值为–1.21‰降低到–1.38‰，这与红薯馒头的 $\delta^{15}N$ 值增减趋势不同。玉米面条的 $\delta^{13}C$ 也是随着玉米全粉添加量的增加而增大，由–26.65‰增至–25.56‰，增大的速度大于红薯面条增加的速度；其 $\delta^{15}N$ 值随着玉米全粉添加量的增加而增大，其最小值–1.03‰亦大于红薯面条的最大值，当添加量为 15%时，$\delta^{15}N$ 值为–0.84‰.

图 3 为基于 $\delta^{13}C$、$\delta^{15}N$ 的三种面条的二维分布图，位于图中左上角的是马铃薯面条，它的 $\delta^{13}C$ 在三种面条中最小而 $\delta^{15}N$ 最大，位于左下角的是红薯面条，同属于 C3 植物的红薯，其 $\delta^{13}C$ 值与马铃薯接近，但是 $\delta^{15}N$ 较小，位于右边的是玉米面条，由于玉米是 C3 植物，因而它的分布会随着添加量的增大而向右移动。由判别图可知，三种作物的面条可以利用 C、N 同位素比值来进行区分，从而达到鉴别真假的目的。

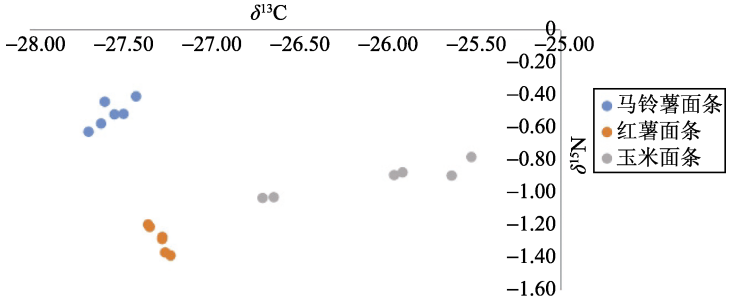


图 3 三种作物粉不同添加量加工面条产品的同位素比率值的二维分布图

Fig. 3 Two-dimensional distribution map of isotope ratio in three kinds of noodles with different content of plant flour granules addition

2.3.2 聚类分析

对三种作物面条进行聚类分析，采用组间联接的聚类方法，面条聚类分析的结果如图 4 所示。

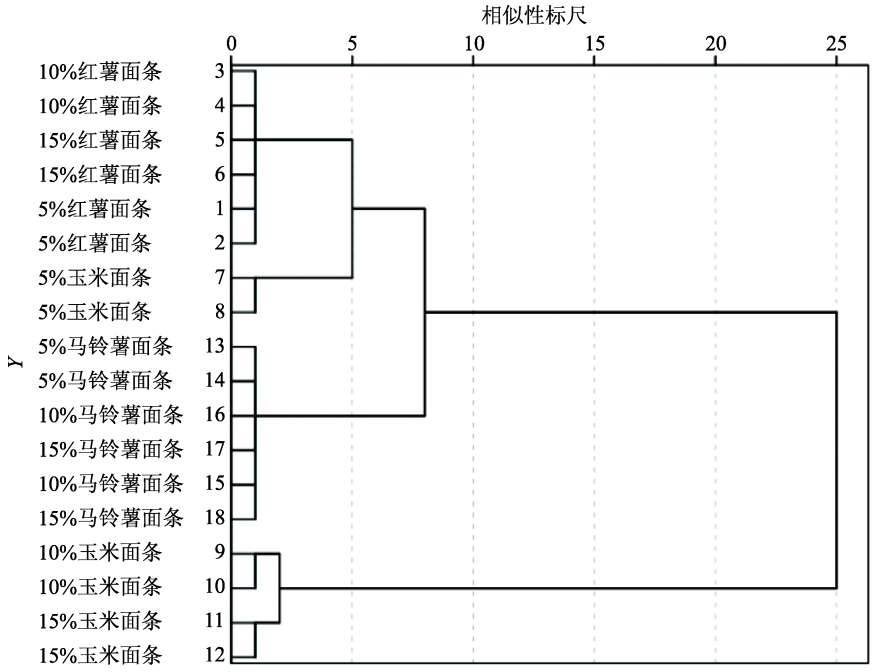


图 4 三种作物粉不同添加量加工面条的同位素比率值的聚类图

Fig. 4 Cluster diagram of isotope ratio in three kinds of noodles with different content of plant flour granules addition

与三种馒头的聚类图相似，依旧是两个5%玉米面条被分类到红薯面条类，但马铃薯面条与另外两种面条未重叠，因而利用 C、N 同位素对三种面条进行分类具有可行性，但考虑到如果只将样品分为 2 类则马铃薯面条与红薯面条会被分进同一类的情况，则更精确的分析就需要使用其他稳定同位素的共同参与。

3 结论

本文应用同位素比值技术对三种不同作物的产品进行定性区分，首先对三种作物全粉的 C、N 元素的同位素比值进行显著性分析，发现三种作物的 $\delta^{13}C$ 和 $\delta^{15}N$ 具有显著性差异，说明使用 $\delta^{13}C$ 和 $\delta^{15}N$ 来区分三种作物的产品具有理论可能性；然后分别将三种产品的 $\delta^{13}C$ 和 $\delta^{15}N$ 用散点图的形式表示，从分布上可以看出三种产品处于不同的区域；最后使用聚类分析。结果表明，马铃薯产品作为单独一类，而红薯和玉米产品作为另外一类，说明利用 $\delta^{13}C$ 和 $\delta^{15}N$ 可以进行马铃薯产品与红薯产品、玉米产品的初步区分。

总的来说，同位素比值技术作为一种鉴别马铃薯产品的方法是可靠的，它弥补了当前国标没有相关检测方法的空白。与此同时，由于同位素在一定程度上受到地理位置影响，未来还需要收集其他地区的马铃薯样品来丰富数据库，使同位素比率质谱检测能真正成为用于商业检测的成熟方法。

[参考文献] (References)

[1] ZHANG H, XU F, WU Y, et al. Progress of potato staple food research and industry development in China[J]. Journal of Integrative Agriculture, 2017, 16(12): 2924-2932.

[2] SCAMPICCHIO M, MIMMOT, CAPICI C, et al. Identification of milk origin and process-induced changes in milk by stable isotope ratio mass spectrometry[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2012, 60(45): 11268-11273.

[3] SIMSEK A, BILSEL M, GOREN A C. $^{13}C/^{12}C$ pattern of honey from Turkey and determination of adulteration in commercially available honey samples using EA-IRMS[J]. Food Chemistry, 2012, 130(4): 1115-1121.

[4] 王磊. 牛乳稳定同位素分布特征及其应用研究[D]. 天津：天津科技大学，2014.
WANG L. Distribution characteristics and application of the stable isotope composition in milk[D]. Tianjin: Tianjin University of Science and Technology, 2014. (in Chinese)

[5] GUYON F, AUBERGER P, GAILLARD L, et al. $^{13}C/^{12}C$ isotope ratios of organic acids, glucose and fructose determined by HPLC-co-IRMS for lemon juices authenticity[J]. Food Chemistry, 2014, 146(3): 36-40.

[6] SCHIPILLITI L, DUGO P, BONACCORSI I, et al. Authenticity control on lemon essential oils employing gas chromatography-combustion-isotope ratio mass spectrometry (GC-C-IRMS)[J]. Food Chemistry, 2012, 131: 1523-1530.

[7] 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.

[8] COZZOLINO D, CYNKAR W, SHAH N, et al. Can spectroscopy geographically classify Sauvignon Blanc wines from Australia and New Zealand[J]. Food Chemistry, 2011, 126(2): 673-678.

[9] RICHLING E, HÖHN C, WECKERLE B, et al. Authentication analysis of caffeine-containing foods via elemental analysis combustion/pyrolysis isotope ratio mass spectrometry (EA-C/P-IRMS)[J]. European Food Research and Technology, 2003, 216(6): 544-548.

[10] CAMIN F, BONTEMPO L, HEINRICH K, et al. Multi-element (H,C,N,S) stable isotope characteristics of lamb meat from different European regions[J]. Anal. Bioanal. Chem., 2007, 389(1): 309-320.

[11] 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.

[12] PERINI M, CAMIN F. $\delta^{18}O$ of ethanol in wine and spirits for authentication purposes[J]. J. Food Sci., 2013, 78(6): C839-C844.

（责任编辑：段桃）