

农产品产地溯源技术研究进展

张晓焱^{1,2}, 苏学素^{3,*}, 焦必宁^{1,2}, 付陈梅², 曹维荃³

(1. 西南大学食品科学学院, 重庆 400715; 2. 中国农业科学院柑桔研究所/西南大学柑桔研究所, 重庆 400712; 3. 西南大学化学化工学院, 重庆 400715)

摘要: 农产品产地溯源是建立农产品质量安全追溯制度的重要组成部分, 也是保障农产品质量安全的有效手段。通过物理学、化学和生物学方法, 分析农产品的有机组成、挥发性成分、同位素含量与比率、DNA 图谱等特征成分或指标, 结合化学计量学研究, 建立起能区分农产品产地来源的特征指纹图谱。本文综述了近年来几种常用农产品产地溯源技术在不同种类农产品中的应用研究进展, 并展望了今后农产品产地溯源技术研究的发展趋势。
关键词: 农产品; 产地溯源; 光谱; 质谱

Research Progress in Methods for Geographical Origin Traceability of Agricultural Products

ZHANG Xiao-yan^{1,2}, SU Xue-su^{3,*}, JIAO Bi-ning^{1,2}, FU Chen-mei², CAO Wei-quan³

(1. College of Food Science, Southwest University, Chongqing 400715, China; 2. Citrus Research Institute, Chinese Academy of Agricultural Sciences/Citrus Research Institute, Southwest University, Chongqing 400712, China; 3. College of Chemistry and Chemical Engineering, Southwest University, Chongqing 400715, China)

Abstract: The geographical origin traceability of agricultural products, an important part of traceability system, is effective in protecting the quality and safety of agricultural products. Using physical, chemical and biological methods, geographical origin of agricultural products can be analyzed according to specific indexes such as organic constituents, volatile compounds, isotope content and ratio, and DNA mapping. Combined with chemometrics, fingerprint profiles of agricultural products can be established by analyzing component data related to geographical origin of samples. Current analytical techniques used for determining geographical origin of agricultural products are reviewed in this paper. Furthermore, the future development trends are also discussed.

Key words: agricultural product; geographical origin traceability; spectroscopy; mass spectrometry

中图分类号: TS201.6

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2010)03-0271-08

近年来, 国内外食品安全重大事故频繁发生, 特别是疯牛病、禽流感、二噁英、三聚氰胺等事件对人类健康构成了巨大威胁。为保证食品安全, 世界各国相继出台一系列政策和措施, 强调食品安全要从“农场到餐桌”进行全程关注, 建立食品质量安全追溯制度。欧盟 178/2002 号法规规定, 从 2005 年起在欧盟范围内销售的所有食品都能进行跟踪和追溯, 2006 年欧盟开始实行食品品质保证体系(指定原产地保护, PDO; 地理标示保护, PGI; 传统特色保护, TSG)。同时美、日等发达国家和地区, 也要求对出口到当地的食物必须能够进行跟踪和追溯, 这也成为国际贸易中的壁垒措施。

农产品产地溯源技术是建立于农产品生产、加工、贮运、销售和消费过程的信息记录和信息追溯体系, 即从“农田到餐桌”的过程跟踪或从“餐桌到农田”的源头追溯技术。这不仅是建立农产品质量安全追溯制度的重要组成部分, 也是保障农产品质量安全的有效手段, 它有利于保护农产品产地, 保护地方特色产品, 打击假冒产品, 确保公平竞争, 增强生产者积极性, 保护消费者合法权益, 并在农产品安全出现问题时能有效召回产品。另外, 消费者对食品来源的关注程度与日俱增, 据英国标准委员会的一项调查显示, 食品产地来源是消费者选择食品的主要依据。

收稿日期: 2009-05-18

基金项目: “十一五”国家科技支撑计划项目(2007BAD47B07); 重庆市自然科学基金项目(CSTC, 2008BB1267); 农业部现代农业(柑橘)产业技术体系项目

作者简介: 张晓焱(1985 -), 女, 硕士研究生, 研究方向为食品安全与质量控制。E-mail: xiaoyan_zh2007@sina.com

* 通信作者: 苏学素(1965 -), 女, 副教授, 博士, 研究方向为食品安全与检测技术。E-mail: suxuesu@163.com

由于我国农产品市场准入制度和溯源体系的不完善,使得原产地保护产品和名优农产品以假乱真、以次充好现象严重。为保护地方特色产品,消除国际贸易壁垒,在国内发展快速准确的农产品产地溯源技术意义十分重大。农产品产地溯源主要是分析表征不同地域来源农产品的特异性指标^[1],目前主要采用质谱、光谱和分子生物学等技术,通过分析农产品的有机组成、挥发性成分、同位素含量与比率、DNA图谱等特征成分或指标,结合化学计量学研究,建立起能区分农产品产地来源的特征指纹图谱,从而对不同种类农产品进行产地溯源。本文综述了近年来几种常用农产品产地溯源技术在不同种类农产品中的应用研究进展,并展望了今后农产品产地溯源技术研究的发展趋势。

1 质谱技术(mass spectrometry, MS)

1.1 稳定同位素比率质谱(isotope ratio mass spectrometry, IRMS)

IRMS是根据同位素丰度的差异将不同来源的物质区分开。由于生物体内同位素组成受气候、地形、土壤及生物代谢类型等因素的影响而发生自然分馏效应,从而使不同来源的物质中同位素自然丰度存在差异^[2]。因此,生物体内同位素丰度的差异能为农产品地理来源提供有用的信息。如今IRMS已广泛应用于肉制品^[3-4]、酒类^[5]、咖啡^[6]、果汁^[7]等众多农产品的产地鉴别。

目前运用IRMS研究较多也较深入的是碳同位素。Schmidt等^[8]利用IRMS对牛肉中的碳同位素进行分析,发现北欧、美国和巴西牛肉的¹³C值分别为 $(-21.6 \pm 1.0)\text{‰}$ 、 $(-12.3 \pm 0.1)\text{‰}$ 和 $(-10.0 \pm 0.6)\text{‰}$,存在显著差异。这主要是由于各国牛肉饲料组成不同,北欧肉牛养殖以C3植物为主,而美国和巴西肉牛以玉米、牧草等C4植物为主,植物中碳元素的组成与植物的光合碳代谢途径和外界环境因子有关,不同种类植物¹³C值存在很大差异^[2],通过食物链将这种差异传递给动物,从而造成动物产品中同位素组成的差异,此外研究也发现爱尔兰传统牛肉¹³C值 $[(-24.5 \pm 0.7)\text{‰}]$ 高于有机牛肉¹³C值 $[(-26.0 \pm 0.2)\text{‰}]$ 。王慧文等^[9]应用IRMS技术,根据肉鸡脚胫和皮肤色度(RCF值)与¹³C值的关系,成功判断出肉鸡色素的来源。

Rummel等^[7]采用IRMS技术对不同国家橙汁中C、H、N、S等多种同位素进行分析后发现,离赤道越近的地方(古巴、墨西哥和佛罗里达),其橙汁中²H值越大,这是由于氢、氧与自然界中水循环有关,水中的²H/¹H与纬度具有典型的相关性,即随着纬度的减小而增加。植物中的N同位素组成不仅取决于地理、气候条件,也与农业肥料的施用有关,阿根廷柑橘种植广泛施用有机肥,研究发现其橙汁中¹⁵N值最高(8‰~

9‰),在意大利和希腊,以合成氮肥施用为主,¹⁵N值最低($< 4\text{‰}$)。而古巴橙汁中³⁴S值(8.8‰~10.96‰)明显高于墨西哥(1.81‰~10.25‰),这可能是地质环境、降雨和农业生产条件等多因素影响的结果。研究还发现,与单一同位素分析结果相比,多元稳定同位素分析得到的结果更加可靠,在农产品的产地鉴别中更具应用前景。

1.2 电感耦合等离子质谱(inductively coupled plasma mass spectrometry, ICP-MS)

ICP-MS在痕量和超痕量水平上,对农产品中的金属或非金属元素进行定量检测,由于各产地的环境,如地质、气候、栽培方式等的不同,使用化学计量学方法获得农产品独特的元素指纹图谱,从而达到农产品溯源的目的。由于其检测限低,分析速度快和多元素同时分析等优点而备受研究者青睐。

康海宁等^[10]利用ICP-MS考察了不同产地、不同种类茶叶中的Mg、Al、P、Ca、Cr、Mn、Fe、Co、Ni、Cu、Zn、Sr和Pb共13种矿质元素的含量,结合聚类分析(cluster analysis, CA)和主成分分析(principal component analysis, PCA)对来自江西、云南、广东和福建4个地区的茶叶进行了产地识别,结果发现江西、云南和福建的茶叶可以明显分开,只有一个广东样品与福建武夷样品没有分开,对不同种类的茶叶也进行了区分,结果令人满意。这是由于植物中矿质元素受气候、土壤、大气污染等环境因素影响,且其含量与环境中的矿质元素的含量之间具有一定的相关性,因此可以通过检测植物中矿质元素含量对产品进行产地溯源。Giacomo等^[11]应用ICP-MS测定了马铃薯中的Mg、Cr、Mn、Fe、Ni、Cu、Zn、Sr、Cd和Ba10种元素的含量,运用线性判别分析(linear discriminant analysis, LDA)对不同产地和不同品种的马铃薯进行了判别。根据这10种元素的含量能准确判别来自意大利福奇诺和阿布鲁佐的马铃薯,对阿布鲁佐4个不同省份的马铃薯分类准确率达到了92.3%,对3个不同品种马铃薯的分类准确率达96.7%。Coetzee等^[12]将ICP-MS技术应用到葡萄酒的产地识别中,也取得了令人满意的结果。

近年来,Garcia-Ruiz等^[13]利用ICP-MS和ICP-AES对苹果酒中34种微量元素和4种常量元素的含量进行了测定,最终选取具有显著差异的14种元素(Na、Mg、Al、K、Ca、Ti、V、Mn、Zn、As、Rb、Sr、Mo、Ba),并结合⁸⁷Sr/⁸⁶Sr同位素丰度比,运用PCA和LDA对来自英国、瑞士、法国和西班牙四个国家的苹果酒进行了产地鉴别。结果鉴别准确率达到100%。

2 光谱技术(spectroscopy)

2.1 荧光光谱技术(fluorescence spectroscopy)

荧光光谱是通过检测农产品中维生素、氨基酸等荧光团的特征峰及荧光强度而获得特征指纹图谱,而农产品中荧光团的含量受地域来源、产品品种等因素影响,因此荧光光谱技术可用于农产品的产地溯源。荧光光谱的优点在于其高灵敏度,作为无损检测技术,相对廉价且快速。

Karoui 等^[14]以色氨酸、芳香性氨基酸和核酸(AAA+NA)、核黄素、VA 为荧光特征物质,运用荧光光谱技术,结合 PCA 和因子判别分析(factorial discriminant analysis, FDA),对不同产地(海拔 430~480、720~860m 和 1070~1150m)牛奶进行了分析,结果发现以色氨酸和 VA 为特征物质对低海拔地区牛奶的识别准确率最好,达 100%。Herbert 等^[15]也运用荧光光谱技术采集了奶酪色氨酸和 VA 的荧光发射光谱,结合 PCA 和 FDA 对不同种类的奶酪进行了判别,准确率都在 90% 以上。

Dupuy 等^[16]应用同步激发发射荧光光谱(SEEFS)对意大利 5 个原产地保护区的初榨橄榄油进行了鉴别。波长为 600~700nm 叶绿素 a 和 b,去镁叶绿素 a 和 b 的荧光发射光谱,加上波长为 275~400nm 生育酚、生育酚、生育酚和酚类化合物的荧光发射光谱,采用偏最小二乘回归(partial least-squares regression, PLS),能准确区分 5 个不同产区的橄榄油。尹春丽等^[17]应用三维荧光光谱技术研究了昌黎原产地干红葡萄酒的三维荧光光谱特征。根据酚酸、花青素、黄烷醇、单宁等荧光物质的含量,发现不同种类葡萄酒的三维荧光特征峰的数目、位置和强度差异显著,而不同年份葡萄酒的仅仅在荧光强度方面变化很大,可以根据荧光特征峰对葡萄酒品种和年份进行判别。

2.2 红外光谱技术(infrared spectroscopy, IR)

一束不同波长的红外射线照射到物质的分子上,某些特定波长的红外射线被吸收,形成这种分子的红外吸收光谱。红外吸收光谱是由分子不停地振动和转动而产生的,而每种分子都有其组成和结构所决定的独特的红外吸收光谱,因此可以对分子进行结构分析和鉴定。电磁波谱的红外区分为 3 部分:近红外光谱区(780~2500nm)、中红外光谱区(大约 2500~25000nm)和远红外光谱区(大约 25~1000 μ m)。近红外和中红外属快速、无损检测技术,已有大量利用该技术分析判别食品地域来源的研究报道。

Liu 等^[18]在可见/近红外 400~2500nm 波长范围,通过标准正态变量变换与二阶导数预处理,建立了偏最小二乘判别分析(partial least squares discriminant analysis, PLS-DA)模型和逐步线性判别分析(stepwise linear discriminant analysis, SLDA)模型,对澳大利亚、新西兰、法国和德国 4 个国家生产的雷司令葡萄酒进行了鉴别,结果发现两种模型对澳大利亚产地识别率最高,分别达

到 86% 和 97.5%,而对其他 3 个国家生产的葡萄酒识别率较低,这可能与葡萄品种、葡萄酒制作工艺等因素相似有关。Fu 等^[19]采用傅立叶变换近红外漫反射光谱仪,在 800~2500nm 波长范围内,利用 PCA-PNN,对浙江塘栖和淳安地区的枇杷进行了识别,结果发现模型对校正集和验证集样品的识别率分别为 97% 和 86%,能有效的将两个产地的枇杷区分开。张宁等^[20]在 830~2500nm 波长范围内,近红外光谱经 5 点平滑与多元散射校正预处理,采用 SIMCA 模式识别方法对山东、河北、内蒙、宁夏 4 个产地的羊肉建立产地溯源模型,模型对验证集样品的识别率分别为 100%、83%、100%、92%。Ruoff 等^[21]采用中红外光谱结合 LDA 对不同国家的蜂蜜进行了识别,结果表明瑞士、德国和法国 3 个国家的洋槐蜜能明显区分开。Galtier 等^[22]利用近红外光谱技术对法国的初榨橄榄油中的脂肪酸和甘油酯进行了检测。表明橄榄油的产地鉴别可以不通过理化分析,而直接通过分析近红外光谱图来区分;近红外光谱技术可以广泛应用于橄榄油的质量管理、流程控制以及产地的快速鉴定等方面。笔者认为今后的研究应着眼于如何设计在线近红外检测设备,将该技术应用于实际生产中。

另外近红外光谱技术还广泛应用于农产品掺假鉴别^[23]和品种鉴别^[24]。张萍等^[25]采用近红外光谱技术对食用油掺假问题进行了研究。采集纯品芝麻油、大豆油、花生油,并将芝麻油中掺入 10% 左右的大豆油和花生油来模拟掺假芝麻油,通过 CA 可以清晰的区分 3 种食用油和掺杂了其他油脂的芝麻油。陈全胜等^[26]采用近红外光谱结合 SIMCA 模式识别方法,分别对龙井、碧螺春、祁红和铁观音 4 类茶叶建立了模型,在 $\alpha=5\%$ 的显著水平,4 类模型对茶叶样品的识别率分别是 90%、80%、100% 和 100%。

2.3 原子光谱(atomic spectroscopy)

原子光谱是通过分析农产品中金属和非金属元素的组成和含量,对农产品来源进行判别,主要包括原子吸收光谱法(atomic absorption spectrometry, AAS)、原子发射光谱法(atomic emission spectrometry, AES)和原子荧光光谱法(atomic fluorescence spectrometry, AFS)。

Yu 等^[27]用 F-AAS 对米酒中的 K、Mn、Zn 和 Fe 4 种元素的含量进行了测定,结果发现浙江绍兴和嘉善两地米酒中 K、Mn、Fe 3 种元素的含量差异显著,同时根据 K、Mn 含量,建立 PLS 模型对米酒进行产地鉴别,判别率达到 100%。F-AAS 操作简单,分析速度快,但不适合分析痕量元素、耐高温元素(B、V、W、Mo)和碱土金属元素,且检出限高^[28]。而 AES 检出限低,且可多元素同时检测。Conde 等^[29]将 F-AAS 和 AES 相结合,对葡萄酒中的 K、Na、Ca、Mg、Fe、Cu、

Zn、Mn、Sr、Li和Rb 11种元素的含量进行测定,结果发现西班牙5个不同地区葡萄酒中的元素(除了K、Ca、Cu外)含量具有显著差异,差异来源于葡萄产地的土壤类型和降雨等因素,说明葡萄酒中Na、Mg、Fe等8种元素对其产地溯源具有指导意义,实验结合PCA和SLDA,结果对葡萄酒原产地分类鉴别的准确率达80%。但AES对非金属元素检测灵敏度低,研究发现将F-AAS/AES与ICP-MS相结合,能弥补AES这一缺点,从而更好的对产品来源进行研究。Madejczyk等^[30]利用F-AAS和ICP-MS对蜂蜜中的B、Ca、K、Mn、Ni等12种元素的含量进行检测,结合CA能很好的判别两种不同植物来源的蜂蜜。同样,Ariyama等^[31]运用F-AAS和ICP-MS测定洋葱中Na、Mg、P、Mn、Co、Ni、Cu、Zn、Rb、Sr、Mo、Cd、Cs和Ba 14种元素的含量,并结合LDA建立模型,对日本、中国、美国等国家的洋葱进行了产地判别。结果日本与其他国家的分类正确率在90%以上,能达到区分产地来源的目的。

2.4 核磁共振(nuclear magnetic resonance spectroscopy, NMR)

NMR是具有自旋性质的原子核在另一交变磁场的作用下发生的物理现象,通过很少的样品前处理,获得农产品特征提取物的结构信息,形成NMR指纹图谱,对农产品来源进行追溯。目前研究最多的是¹H和¹³C NMR。陈波等^[32]用¹H NMR分析测定了从福建等地收集的不同种类的茶叶,检测了氨基酸、茶氨酸、儿茶素、蔗糖、咖啡因等约20种物质,并结合PCA和CA对茶叶产地和种类进行了分类。结果表明,利用¹H NMR图谱可将福建西坪铁观音和其他产地的铁观音明显区分开,且西坪铁观音中咖啡因、部分氨基酸和儿茶素含量较高。同时区分不同种类茶叶的结果也令人满意。Consonni等^[33]应用¹H NMR考察了蜂蜜中的糖、氨基酸、甲酸、乙酸以及醋酸,结果发现阿根廷百花蜜比匈牙利和意大利的具有更丰富的苯丙氨酸和酪氨酸,结合PLS-DA能准确区分这三个国家的蜂蜜。¹H NMR结合化学计量学方法也应用到橄榄油^[34]、蜂胶^[35]的原产地分析中。

常用于食品分析中的NMR有低分辨率NMR(LR-NMR)和高分辨率NMR(HR-NMR)两种,LR-NMR虽具有操作简单和价格优势,但需要其他辅助方法进行定量分析,使其测量的精确度大大下降;HR-NMR虽成本高,但得到的样品分子结构信息更丰富而使其在食品分析中的应用更广泛。目前HR-NMR最主要的应用之一是点特异性天然同位素分馏核磁共振(site-specific natural isotope fractionation, SNIF-NMR)。SNIF-NMR是通过同位素比值来追溯产品来源。Kosir等^[36]采用SNIF-NMR

和IRMS,对葡萄酒乙醇分子中甲基位、次甲基位、羟基位和水分子4个特异性同位素分布点的氘同位素分布和¹³C比值进行测定,通过PCA、KANN和CA,能准确区分斯洛文尼亚沿海与内陆地区的葡萄酒。

由于NMR要求化合物中元素的原子核具有核自旋,因为不具有自旋的原子核无磁矩,观察不到核磁共振信号,所以将NMR应用到食品产地溯源有一定的局限性。将NMR与IRMS结合应用能提高产地溯源的识别率。Renou等^[37]利用NMR研究了来自高山和平原牛乳脂肪中多不饱和脂肪酸(PUFA)、单不饱和脂肪酸(MUFA)、饱和脂肪酸(SFA)含量,同时利用IRMS分析了牛乳中水的¹⁸O和²H值。结果发现高山区牛乳脂肪中PUFA含量在(4.3 ± 2.4)% ~ (6.2 ± 1.1)%显著高于平原区的(1.7 ± 0.4)% ~ (1.8 ± 1.5)%,而两地牛乳脂肪中MUFA和SFA无明显差别;两地牛乳中水的¹⁸O和²H值也有明显差异,这种差异主要与两地植被和微生物菌群有关。

3 分离技术

3.1 气相色谱(gas chromatography, GC)

不同农产品的特征成分各不相同,受地理、气候等多种因素的影响,不同产地同种农产品其特征成分组成和含量也存在差异。GC灵敏度好,分辨率高,重复性好,利用GC检测农产品中挥发性特征成分组成及其含量可以对不同产地来源的农产品进行识别。

国内外对特征性挥发成分的检测报道较多。范文来等^[38]应用GC-FID和聚类分析比较了四川地区和江淮流域的白酒原酒,检测了包括2,3-丁二醇、糠醛、2-戊酮、乙酸、乙酯类化合物在内的38种微量成分,结果发现四川SL地区浓香型酒的微量成分平均总量为57.57g/L,明显高于四川SG(10.66g/L)、SS(12.10g/L)、SC(11.44g/L)地区和江淮流域(10.61g/L),从聚类分析图上也可以清楚的区分四川SL产区和其他产区的白酒。国外学者Pillonel等^[39]采用GC-MS对奶酪中的挥发性成分进行分析发现,可根据3-羟基丁酮、2-丁酮、2-丁醇和辛烯的含量进行奶酪地理来源分析,区分瑞士和其他国家的奶酪。Zunin等^[40]利用GC-MS对来自希腊、西班牙、突尼斯、意大利利古里亚区和普利亚区的105个特级初榨橄榄油中8种萜类化合物进行了分析,发现根据 α -古巴烯和 β -衣兰油烯的含量可以准确区分意大利橄榄油(α -古巴烯 5%或 β -衣兰油烯 0.5%)和非意大利橄榄油,再根据 β -法尼烯的含量可以进一步区分意大利利古里亚区(β -法尼烯 3%)和普利亚区的橄榄油。不同来源的蜂蜜存在特有的香气成分(如 α -甲基苯基乙醇、 α -萜烯、1-辛烯-3-醇等),Radovic等^[41]用GC-MS对这些香气成分进行研究,成功区分来自8个

国家、9种植物来源的43个蜂蜜样品。Risticvic等^[42]通过GC-TOFMS检测了咖啡中的2-甲基-3,5-二甲基吡嗪、乙酸糠酯、2-甲基吡嗪、5-甲基糠醛等特征成分,并应用于鉴别咖啡产地。

3.2 高效液相色谱(high performance liquid chromatography, HPLC)

HPLC主要通过分析检测食品中特征成分的组成及含量,从而对农产品产地来源进行分析。因其具有灵敏度高、重现性好、样品前处理简单等优点而被广泛运用。

目前,HPLC已应用到酒类^[43]、橄榄油^[44]、奶酪^[45]等农产品的产地识别中。Alonso-Salces等^[46]运用反相HPLC测定了咖啡豆中的酚醛酸和甲基黄嘌呤,发现酚醛酸和肉桂酸可以作为判别咖啡豆产地的特征成分,结合LDA和PLS-DA,对喀麦隆和越南咖啡豆的分类准确率达100%,对喀麦隆和印度尼西亚咖啡豆的分类准确率为94%。Latti等^[47]采用RP-HPLC-DAD对越橘(*Vaccinium myrtillus* L.)中的花青素进行了分析,并根据花青素含量对芬兰南部和北部的越橘进行了识别。结果发现南部地区(约2500mg/100g干质量)越橘花青素总量显著低于北部地区(约3000mg/100g干质量),且北部地区越橘中主要存在的是飞燕草苷元,而南部地区越橘中主要是矢车菊素糖甙,根据花青素含量和不同糖苷配基能准确区分不同地区越橘。也有学者应用HPLC建立了不同酒龄葡萄酒花青素指纹图谱,发现不同酒龄葡萄酒的花青素指纹图谱明显不同,可以区分不同酒龄的葡萄酒^[48]。

3.3 毛细管电泳(capillary electrophoresis, CE)

由于不同分子所带电荷性质、多少不同,分子大小、形状各异,样品中各组分在电泳中的迁移速度不同,使不同组分分离。CE通过对农产品各成分的分离分析,建立不同产地农产品指纹图谱,追溯农产品产地来源。

因具有分析速度快、分辨能力强、操作简单等优点,CE已广泛应用到简单的无机离子、有机小分子、多肽、蛋白质、核酸、病毒及细菌的分离分析研究中。在20世纪90年代中期,Delgado等^[49]首次运用CE分离分析蜂蜜中的类黄酮,对蜂蜜来源进行了研究。此后,Núñez等^[50]采用CE对西班牙葡萄酒中的Na、K、Ca、Mn、Li 5种金属元素的含量进行了测定,并结合CA、PCA、LDA、KNN和SIMCA方法,对西班牙Ribeira Sacra、Ribeiro和Valdeorras 3个地区的葡萄酒进行了产地来源分析。由于产地间土壤、气候条件的差异,加上葡萄酒发酵时间和温度的不同,使不同产地葡萄酒中5种金属元素含量差异显著。化学计量学方法能准确区分Ribeira Sacra和其他两个产地的葡萄酒,却很难区分Ribeiro和Valdeorras产地产品。

4 其他技术

4.1 分子生物学技术

分子生物学技术应用于农产品产地溯源主要是基于微生物菌群PCR产物的电泳分析。不同环境中微生物的数量尤其是微生物种类和特性存在很大差异,可以用于农产品产地分析。

Raspor等^[51]采用PCR-RFLP对斯洛文尼亚东南部5个不同葡萄园的葡萄中的酵母菌进行研究,发现不同产地葡萄中存在特定的酵母菌种,如:*D.hansenii* var. *hansenii*和*M.reukaufii*两种酵母只存在于Pleterje产葡萄中;Zavode产葡萄中的特定酵母是*Pichia membranifaciens*;Hom产葡萄中分离的特定酵母是*Cryptococcus albidus* var. *albidus*和*Dioszegia hungarica*。结果表明不同产地葡萄中酵母菌不同,根据特定酵母菌种类可以对葡萄进行产地识别。Nguyen等^[52]采用16S rDNA PCR-DGGE指纹技术对越南An Giang省5个不同地区(Chau Phu、An Phu、Phu Tan、Chau Doc、Tan Chau)苏氏鱼中的微生物菌群进行了分析,结果发现不同地区样品DNA条带存在差异,通过聚类分析发现,在70%相似水平上,同一季节不同地区采集的样品可以分为两类,Chau Doc和Chau Phu聚为一类,其余的为另一类。这主要与鱼类生活的环境以及使用的抗生素有关。该文作者认为可以找到不同产地样品特定的微生物种类,建立产品产地识别的生物条形码。同时也有报道将SSCP、SSR等技术应用到农产品产地识别研究中。

4.2 电子鼻(electronic nose)

电子鼻又称气味扫描仪,是在20世纪90年代发展起来的一种分析、识别和检测挥发性成分的新颖仪器。通过特定的传感器阵列、信号处理和模式识别系统,能快速测定样品中挥发性成分的整体信息。

Pinalli等^[53]应用12个金属氧化物半导体传感器阵列的电子鼻系统,结合差分函数分析(DFA),对意大利、中国华北地区和华南地区的牛肝菌进行了产地分析,发现对意大利和中国华南地区样品的判别水平高达94.5%;意大利与中国华南地区样品在分类图中的距离较远,能明显区分开,而意大利与中国华北地区样品存在一定的重叠,可能的原因是两地纬度差异小使牛肝菌中存在某些相似成分。Guadarrama等^[54]采用导电聚合物传感器电子鼻系统,结合PCA,对不同等级和西班牙不同地区的橄榄油进行了鉴别,能准确区分不同等级和不同产地的橄榄油。胡桂仙等^[55]运用10个传感器阵列的电子鼻系统对5批不同时间(15d/批)采摘的柑橘进行了成熟度检测分析。结果表明,采用电子鼻系统中的线性判别法能判别出不同采摘期的柑橘,正确判断率达88%,为判断柑橘成熟度提供了依据。还有学者采用10个传感器阵列的电子鼻系统检测茶叶中的挥发性成分,对茶叶等级进行判别^[56]。

与传统的化学分析方法和感官评价方法相比,电子

鼻作为一项新兴技术,具有操作简便、样品前处理简单、测定速度快,重现性好等优点,但受制造材料、

检测环境、数据处理等方面的限制,仍有许多问题需要进一步研究。

表1 不同种类农产品产地溯源实例

Table 1 Examples of major techniques used to trace geographical origin of different species of agricultural products

产品	主要技术	检测参数	数据处理	参考文献
肉制品				
牛肉	IRMS	^{13}C , ^{15}N , ^{34}S	方差分析, 多重比较分析	[4]、[8]
羊肉	NIR	—	SIMCA	[20]、[24]
奶制品				
牛奶	NMR+IRMS	MUFA, PUFA, SFA, ^{18}O , ^2H	方差分析	[37]
奶酪	RP-HPLC	氨基酸、醇、醛、酯等挥发性成分	方差分析, PCA	[45]
	荧光光谱	色氨酸、VA、核黄素	PCA, FDA	[14]、[15]、[57]
果蔬/果汁/果酒				
马铃薯	ICP-MS	Mg、Cr、Mn、Fe、Ni、Cu、Zn、Sr、Cd、Ba	LDA	[11]
洋葱	F-AAS+ICP-MS	Na、Mg、P、Mn、Co、Ni 14种元素	LDA	[31]
枇杷	NIR	—	PCA-PNN	[19]
橙汁	IRMS/ICP-MS	^2H , ^{13}C , ^{15}N , ^{34}S , $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$, Ba等元素	DA, 盒须图	[7]、[58]
苹果酒	ICP-MS+ICP-AES	Na、Mg、Al等38种元素, $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$	PCA, LDA	[13]
	NIR	—	PCA, SLDA, PLS-DA	[18]
葡萄酒	F-AAS+AES	Na、Mg、Fe、Zn、Mn、Sr等元素	PCA, SLDA	[29]、[59]
	SNIF-NMR+IRMS	^{13}C , D/H	PCA, CA, KANN	[36]
	CE	Na、K、Ca、Mn、Li	PCA, KNN, SIMCA, CA	[50]
蜂蜜	F-AAS+ICP-MS	B、Ca、K、Mn、Ni等12种元素	CA	[30]
	^1H NMR	^2H 、苯丙氨酸、酪氨酸、甲酸、乙酸等	PLS-DA	[33]、[35]
茶叶	ICP-MS	Mg、Al、P、Ca、Cr、Mn等13种矿质元素	HCA, PCA	[10]
	NMR	氨基酸、茶氨酸、儿茶素、咖啡因等20种物质	PCA, CA	[32]
	荧光光谱	叶绿素a和b, -, -, -生育酚等物质	PLS	[16]
橄榄油	^1H NMR	H	PCA, LDA, PNN	[34]
	NIR/MIR	—	PLS-DA, PCA, SIMCA	[22]、[60]
	GC-MS/HPLC	- 古巴烯、- 衣兰油烯、- 法尼烯等8种萜类化合物	多元分析, PCA, SIMCA	[40]、[44]

表2 主要产地溯源技术特点及其应用

Table 2 Characteristic features and applications of major techniques for tracking geographical origin

方法	优缺点	检测指标	农产品	参考文献
质谱技术				
IRMS	灵敏度高, 准确性好, 分析速度较慢, 费用高	同位素	肉制品、葡萄酒、咖啡、橘子汁	[3-9]
ICP-MS	痕量或超痕量分析, 多元素同时分析, 分析速度快, 但操作较复杂, 费用高	元素	茶叶、苹果酒、马铃薯、葡萄酒	[10-13]、[58]
光谱技术				
荧光光谱	无损检测, 分析速度快, 廉价, 灵敏度高, 痕量分析	任何成分	牛奶、橄榄油、奶酪	[14-16]、[57]
NIR/MIR	无损检测, 分析速度快, 操作简单, 样品不需要前处理, 样品量大, 不适合痕量分析	任何成分	葡萄酒、枇杷、羊肉、蜂蜜、食用油、茶叶	[18-21]、[25-26]、[60]
AAS/AES	分析速度较快, 灵敏度较高, 常量或微痕量分析	元素	酒类、蜂蜜、洋葱	[27]、[29]、[31]、[59]
NMR	无损检测, 分析速度较慢, 费用高, 灵敏度不高	任何成分	茶叶, 葡萄酒, 橄榄油, 蜂胶, 蜂蜜, 牛奶	[32-37]
分离技术				
GC	灵敏度高, 分辨率高, 重复性好, 分析速度较慢, 费用高	挥发性化合物	奶酪、橄榄油、蜂蜜、咖啡	[39-42]
HPLC	灵敏度高, 重复性好, 样品用量少, 易回收且前处理简单	任何成分	葡萄酒、橄榄油、奶酪、越橘、咖啡豆	[43-47]
CE	操作简单, 分辨能力强, 分析速度较快, 但重复性不高	任何成分	蜂蜜、葡萄酒	[49-50]
其他技术				
分子生物学技术	分析速度快, 灵敏度高, 特异性强, 重现性好, 易出现假阴性或假阳性	DNA	葡萄、鱼类	[51-52]
电子鼻	分析速度快, 重复性好, 操作简单, 样品前处理简单, 受制造材料和检测环境的影响	挥发性化合物	蘑菇、橄榄油、柑橘、茶叶	[53-56]

5 结 语

近年来,随着人民生活水平的不断提高和农产品国际贸易竞争的日益激烈,发达国家已建立起农产品质量安全追溯体系,并立法强制要求对农产品进行产地标示,使得产地溯源技术研发工作不断深入,从而逐渐发展了适合农产品产地溯源的方法,并应用于不同种类农产品的产地溯源中(表 1)。

表 2 总结了几个主要的产地溯源技术的特点及应用。尽管国内外在农产品产地溯源方面研究较多,且取得了一定成果,还需要从以下几个方面继续深入研究:1)任何方法都有各自的优缺点,而到目前为止,还没有一种独立的技术能完全用于农产品产地溯源分析中^[1],为达到快速、准确、廉价地判断产品来源的目的,在实际应用中应考虑如何将多种技术相结合。2)研究表明,通过分析检测食品中一种或几种化合物能在一定程度上对产地进行溯源,以后可在特征指标的选择上作综合考虑,对农产品中多种特征成分综合分析或对单一特征成分的亚类进行分析,对产品地域来源进行判别,如分析农产品脂质中的磷脂和固醇。3)前期研究结果证明,稳定同位素和矿质元素分析是追溯产品地域来源很有前景的方法^[1],近年来兴起的新技术(如 DNA 芯片技术、质子传递反应质谱)也可逐步应用于农产品产地溯源研究中。

参考文献:

- [1] 郭波莉. 牛肉产地同位素与矿物元素指纹溯源技术研究[D]. 北京: 中国农业科学院, 2007.
- [2] 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): 284-286.
- [3] PIASSENTIER E, VALUSSO R, CAMIN F. Stable isotope ratio analysis for authentication of lamb meat[J]. *Meat Science*, 2003, 64(3): 239-247.
- [4] 郭波莉, 魏益民, 潘家荣, 等. 碳、氮同位素在牛肉产地溯源中的应用研究[J]. 中国农业科学, 2007, 40(2): 365-372.
- [5] OGRINC N, KOSIR I J, KOCJANCIC M, et al. Determination of authenticity, regional origin, and vintage of Slovenian wines using a combination of IRMS and SNIF-NMR analyses[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2001, 49(3): 1432-1440.
- [6] SERRA F, GUILLOU C G, RENIERO F, et al. Determination of the geographical origin of green coffee by principal component analysis of carbon, nitrogen and boron stable isotope ratios[J]. *Rapid Communication in Mass Spectrometry*, 2005, 19(15): 2111-2115.
- [7] RUMMEL S, HOELZL S, HORN P, et al. The combination of stable isotope abundance ratios of H, C, N and S with ⁸⁷Sr/⁸⁶Sr for geographical origin assignment of orange juices[J]. *Food Chemistry*, 2010, 118(4): 890-900.
- [8] 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.
- [9] 王慧文, 杨曙明, 吴伟. 用稳定同位素质谱技术检测肉鸡色素的来源[J]. 分析测试学报, 2007, 26(5): 608-611.
- [10] 康海宁, 杨妙峰, 陈波, 等. 利用矿质元素的测定数据判别茶叶的产地和品种[J]. 岩矿测试, 2005, 25(1): 22-26.
- [11] GIACOMO F D, SIGNORE A D, GIACCIO M. Determining the geographic origin of potatoes using mineral and trace element content[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2007, 55(3): 860-866.
- [12] COETZEE P P, STEFFENS F E, EISELEN R J, et al. Multi-element analysis of south african wines by ICP-MS and their classification according to geographical origin[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2005, 53(13): 5060-5066.
- [13] GARCIA-RUIZ S, MOLDOVAN M, FORTUNATO G, et al. Evaluation of strontium isotope abundance ratios in combination with multi-elemental analysis as a possible tool to study the geographical origin of ciders[J]. *Analytica Chimica Acta*, 2007, 590(1/2): 55-66.
- [14] KAROURI R, MARTIN B, DUROUR E. Potentiality of front-face fluorescence spectroscopy to determine the geographic origin of milks from the Haute-Loire department (France)[J]. *Lait*, 2005, 85(3): 223-236.
- [15] HERBERT S, RIOU N M, DEVAUX M F, et al. Monitoring the identity and the structure of soft cheeses by fluorescence spectroscopy[J]. *Lait*, 2000, 80(6): 621-634.
- [16] DUPUY N, LE-DRÉAU Y, OLLIVIER D, et al. Origin of French virgin olive oil registered designation of origins predicted by chemometric analysis of synchronous excitation-emission fluorescence spectra[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2005, 53(24): 9361-9368.
- [17] 尹春丽, 丁春晖, 李华. 昌黎原产干红葡萄酒的三维荧光光谱特征研究[J]. 分析测试学报, 2008, 27(6): 641-643.
- [18] LIU L, COZZOLONO D, CYNKAR W U, et al. Preliminary study on the application of visible-near infrared spectroscopy and chemometrics to classify Riesling wines from different countries[J]. *Food Chemistry*, 2008, 106(2): 781-786.
- [19] FU X P, YING Y B, ZHOU Y, et al. Application of probabilistic neural networks in qualitative analysis of near infrared spectra: determination of producing area and variety of loquats[J]. *Analytica Chimica Acta*, 2007, 598(1): 27-33.
- [20] 张宁, 张德权, 李淑荣, 等. 近红外光谱结合 SIMCA 法溯源羊肉产地的初步研究[J]. 农业工程学报, 2008, 24(12): 309-311.
- [21] RUOFF K, LUGINBHL W, KNZLI R, et al. Authentication of the botanical and geographical origin of honey by mid-infrared spectroscopy [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2006, 54(18): 6873-6880.
- [22] GALTIER O, DUPUY N, LE-DRÉAU Y, et al. Geographic origins and compositions of virgin olive oils determined by chemometric analysis of NIR spectra[J]. *Anal Chim Acta*, 2007, 595(1/2): 136-144.
- [23] 张宁, 张德权, 李淑荣, 等. 近红外光谱定性分析技术在食品安全中的应用研究进展[J]. 食品科技, 2008(8): 218-221.
- [24] COZZOLINO D, MURRAY I. Identification of animal meat muscles by visible and near infrared reflectance spectroscopy[J]. *Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie*, 2004, 37(4): 447-452.
- [25] 张萍, 闫继红, 朱志华, 等. 近红外光谱技术在食品品质鉴别中的应用研究[J]. 现代科学仪器, 2006(1): 60-62.
- [26] 陈全胜, 赵文杰, 张海东, 等. SIMCA 模式识别方法在近红外光谱识别茶叶中的应用[J]. 食品科学, 2006, 27(4): 186-189.
- [27] YU H Y, ZHOU Y, FU X P, et al. Discrimination between Chinese rice wines of different geographical origins by NIRS and AAS[J]. *European Food Research and Technology*, 2007, 225(3/4): 313-320.
- [28] 石杰, 李力, 胡清源, 等. 烟草中微量元素和重金属检测进展[J]. 烟草科技, 2006(2): 40-42.
- [29] CONDE J E, ESTÉZ D E, RODRÍGUEZ-BENCOMO J J, et al. Characterization of bottled wines from the Tenerife island (Spain) by their metal ion concentration[J]. *Journal of Food Science*, 2002, 14(4):

- 375-386.
- [30] MADEJCZYK M, BARALKIEWICZ D. Characterization of polish rape and honeydew honey according to their mineral contents using ICP-MS and F-AAS/AES[J]. *Analytica Chimica Acta*, 2008, 617(1/2): 11-17.
- [31] ARIYAMA K, AOYAMA Y, MOCHIZUKI A, et al. Determination of the geographic origin of onions between three main production areas in Japan and other countries by mineral composition[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2007, 55(2): 347-354.
- [32] 陈波, 张巍, 康海宁, 等. 茶叶的¹H NMR 指纹图谱研究[J]. *波谱学杂志*, 2006, 23(2): 169-178.
- [33] CONSONNI R, CAGLIANI L R. Geographical characterization of polyfloral and acacia honey by nuclear magnetic resonance and chemometrics[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2008, 56(16): 6873-6880.
- [34] MANNINA L, PATUMI M, PROIETTI N, et al. Geographical characterization of Italian extra virgin olive oils using high-field ¹H NMR spectroscopy[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2001, 49(6): 2687-2696.
- [35] WATSON D G, PEYFOON E, ZHENG L, et al. Application of principal components analysis to ¹H NMR data obtained from propolis samples of different geographical origin[J]. *Phytochemical analysis*, 2006, 17(5): 323-331.
- [36] KOSIR I J, KOCJANCIC 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.
- [37] RENOU J P, DEPONGE C, GACHON P, et al. Characterisation of animal products according to geographic origin and feeding diet using nuclear magnetic resonance and isotope ratio mass spectrometry: cow milk[J]. *Food Chemistry*, 2004, 85(1): 63-66.
- [38] 范文来, 徐岩. 应用 GC-FID 和聚类分析比较四川地区白酒原酒与江淮流域白酒原酒[J]. *酿酒科技*, 2007(11): 75-78.
- [39] PILLONEL L, AMPUERO S, TABACCHI R, et al. Analytical methods for the determination of the geographic origin of emmental cheese: volatile compounds by GC/MS-FID and electronic nose[J]. *European Food Research and Technology*, 2003, 216(2): 179-183.
- [40] ZUNIN P, BOGGIA R, SALVADEO P, et al. Geographical traceability of West Liguria extravirgin olive oils by the analysis of volatile terpenoid hydrocarbons[J]. *Journal of Chromatography A*, 2005, 1089(1/2): 243-249.
- [41] RADOVIC B S, CARERI M, MANGIA A, et al. Contribution of dynamic headspace GC-MS analysis of aroma compounds to authenticity testing of honey[J]. *Food Chemistry*, 2001, 72(4): 511-520.
- [42] RISTICEVIC S, CARASEK E, PAWLISZYN J. Headspace solid-phase microextraction-gas chromatographic-time-of-flight mass spectrometric methodology for geographical origin verification of coffee[J]. *Analytica Chimica Acta*, 2008, 617(1/2): 72-84.
- [43] RODRIQUEZ-DELGADO M A, GONZALEZ-HERNANDEZ G, CONDE-GONZALES J E, et al. Principal component analysis of the polyphenol content in young red wines[J]. *Food Chemistry*, 2002, 78(4): 523-532.
- [44] STEFANOUDAKI E, KOTSIFAKI F, KOUTSAFTAKIS A. The potential of HPLC triglyceride profiles for the classification of Cretan olive oils[J]. *Food Chemistry*, 1997, 60(3): 425-432.
- [45] CAGNO R D, BANKS J, SHEEHAN L, et al. Comparison of the microbiological, compositional, biochemical, volatile profile and sensory characteristics of three Italian PDO ewes' milk cheeses[J]. *International Dairy Journal*, 2003, 13(12): 961-972.
- [46] ALONSO-SALCES R M, SERRA F, RENIERO F, et al. Botanical and geographical characterization of green coffee(coffee arabica and coffee canephora): chemometric evaluation of phenolic and methylxanthine contents[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2009, 57(10): 4224-4235.
- [47] LÄTTI A K, RIIHINEN K R, KAINULAINEN P S. Analysis of anthocyanin variation in wild populations of Bilberry(*Vaccinium myrtillus* L.) in Finland[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2008, 56(1): 190-196.
- [48] 张军翔, 冯长根, 李华. 蛇龙珠葡萄酒酒龄花青素高效液相色谱(HPLC)指纹图谱研究[J]. *中国农业科学*, 2006, 39(7): 1451-1456.
- [49] DELGADO C, TOMAS-BÁEBERÁN F A, TALOU T, et al. Capillary electrophoresis as an alternative to HPLC for determination of honey flavonoids[J]. *Chromatographia*, 1994, 38(1/2): 71-78.
- [50] NÚÑEZ M, PEÑNA R M, HERRERO C, et al. Analysis of some metals in wine by means of capillary electrophoresis. Application to the differentiation of Ribeira Sacra Spanish red wines[J]. *Analisis*, 2000, 28(5): 432-437.
- [51] RASPOR P, MILEK D M, POLANC J, et al. Yeasts isolated from three varieties of grapes cultivated in different locations of the *Dolenjska* vine-growing region, *Slovenia*[J]. *International Journal of Food Microbiology*, 2006, 109(1/2): 97-102.
- [52] NGUYEN D D L, NGOC H H, DIJOUX D, et al. Determination of fish origin by using 16S rDNA fingerprinting of bacterial communities by PCR-DGGE: An application on Pangasius fish from Viet Nam[J]. *Food Control*, 2008, 19(5): 454-460.
- [53] PINALLI R, GHIDINI S, DALCANALE E, et al. Differentiation of mushroom from three different geographic origins by artificial olfactory system (AOS) [J]. *Ann Fac Medic Vet di Parma*, 2006, 26: 183-192.
- [54] GUADARAMA A, RODRIGUEZ-MÉNDEZ M L, SANZ C, et al. Electronic nose based on conducting polymers for the quality control of the olive aroma -Discrimination of quality, variety of olive and geographic origin[J]. *Analytica Chimica Acta*, 2001, 432(2): 283-292.
- [55] 胡桂仙, GÓMES A H, 王俊, 等. 电子鼻无损检测柑橘成熟度的实验研究[J]. *食品与发酵工业*, 2005, 31(8): 57-60.
- [56] 于慧春, 王俊. 电子鼻技术在茶叶品质检测中的应用研究[J]. *传感技术学报*, 2008(5): 749-751.
- [57] KAROUFI R, BOSSET J-O, MAZEROLLES G, et al. Monitoring the geographic origin of both experimental French Jura hard cheeses and Swiss Gruyère and L'Etivaz PDO cheeses using mid-infrared and fluorescence spectroscopies: a preliminary investigation[J]. *International Dairy Journal*, 2005, 15(3): 275-286.
- [58] SIMPKINS W A, LOUIE H, WU M, et al. Trace elements in Australian orange juice and other products[J]. *Food Chemistry*, 2000, 71(4): 423-433.
- [59] KOREŇOVSKÁ M, SUHAJ M. Identification of some Slovakian and European wines origin by the use of factor analysis of elemental data[J]. *European Food Research and Technology*, 2005, 221(3/4): 550-558.
- [60] GURDENIZ G, OZEN B, TOKATLI F. Classification of Turkish olive oils with respect to cultivar, geographic origin and harvest year, using fatty acid profile and mid-IR spectroscopy[J]. *European Food Research and Technology*, 2008, 227(4): 1275-1281.