

稳定碳·氮同位素在植物产地溯源中的应用

廖初琴, 缪绅裕* (广州大学生命科学学院, 广东广州 510006)

摘要 生物的稳定同位素组成包含关于其地理和生态起源的信息, 是生物的自然指纹, 不易受生产加工过程而改变, 有着较高的稳定性和准确度, 因此可以将稳定同位素作为地理来源的过程指标和示踪剂。稳定同位素分析目前已广泛用于产地溯源, 尤其是在传统分析方法不能提供明确结果的情况下。对稳定碳、氮同位素在植物产地溯源中的应用进行阐述。今后使用稳定同位素进行产地溯源的研究将会越来越深入, 为尽量避免使用单一稳定同位素进行研究时导致的误差, 可以综合考虑稳定碳、氮同位素来提高产地溯源成功率和快速建立完整的同位素产地溯源数据库, 为今后产地溯源相关研究提供参考。

关键词 稳定碳同位素; 稳定氮同位素; 产地溯源; 植物

中图分类号 X173 **文献标识码** A

文章编号 0517-6611(2022)15-0019-03

doi: 10. 3969/j. issn. 0517-6611. 2022. 15. 006

开放科学(资源服务)标识码(OSID):



Application of Stable Carbon and Nitrogen Isotopes in Tracing the Geographical Origin of Plants

LIAO Chu-qin, MIAO Shen-yu (School of Life Sciences, Guangzhou University, Guangzhou, Guangdong 510006)

Abstract The stable isotope composition of organisms contains information about the origin of its geography and ecology. It is a natural fingerprint of organisms that cannot be easily changed by production and processing. Therefore, stable isotopes can be used as process indicators and tracers of geographical origin. Stable isotope analysis has been widely used for origin traceability, especially when traditional analytical methods cannot provide clear results. In this paper, the application of stable carbon and nitrogen isotopes in plant origin tracing is reviewed. In the future, the use of stable isotopes for origin traceability will be more and more deep. In order to avoid the errors caused by using a single stable isotope for studies, stable carbon and nitrogen isotopes can be considered in combination to improve the success rate of provenance tracing and to rapidly build a complete database of isotopic traceability of origin, which will provide a reference for the traceability of origin related research in the future.

Key words Stable carbon isotope; Stable nitrogen isotope; Geographical origin; Plants

近年来,随着人们的食品安全意识以及对濒危野生植物的保护意识不断提高,农产品及珍稀物种的产地溯源也受到人们的高度重视。清楚地了解农产品以及珍稀物种的产地,一方面可以打击假冒伪劣产品、打压以次充好的现象,另一方面也可以更好地了解相关珍稀物种的生长环境以便做出相应的保护措施^[1]。与动物不同,植物在没有人移栽的情况下从种子萌芽开始都在一个地方固定生长,因此体内的稳定同位素组成与它的生长环境息息相关,也就是说植物体内的稳定同位素组成在一定程度上可以反映出其生长环境情况。想要更好的追溯农产品以及珍稀植物的源头,当代的研究主要是通过研究植物组织中某一稳定同位素或者结合矿物质元素来获取相关信息,但是仅通过检测分析单一稳定同位素或矿物质元素进行溯源会使结果出现较大偏差,成功率较低。产地溯源时所参考的指标均存在一定优缺点,例如 $\delta^{13}\text{C}$ 可以综合反映温度等环境因子,但其在距离相近的地区之间差异不显著,无法有效判别; $\delta^{15}\text{N}$ 是土壤氮来源、土地利用方式、耕作措施等的良好指示,但其同一个地区不同样品间变异较大^[2]。由此可以看出稳定碳、氮同位素存在一定的互补性,且稳定碳氮同位素组成可用同一份植物组织或土壤等固体样品中经稳定同位素质谱—元素分析联用仪(EA-IRMS)被转化为 CO_2 和 N_2 测试,从而得到样品中的碳、氮百分含量及其稳定同位素值,同时测定,因此在今后考虑将稳定碳、

氮同位素结合起来进行产地溯源,这样溯源结果的准确率比起单一使用碳、氮稳定同位素也会有所提高。

1 同位素的概念

同位素是指质子数相同中子数不同且在元素周期表中位置不同的不同核素。同位素按照稳定性强弱可分为稳定同位素和放射性同位素^[3]。该研究主要介绍在产地溯源使用较广泛的稳定碳、氮同位素。碳同位素中的 ^{13}C 属于稳定同位素,与放射性同位素 ^{14}C 不同的是,它进入植物体内不会自发地放出射线导致衰变且含量非常稳定。 ^{13}C 进入植物体并形成植物组成物质过程的第一阶段即大气中的 CO_2 进入气孔腔时,除受自身遗传因素影响外,它还会受到与植物本身生长密切相关的地理和环境因子比如经纬度、海拔、大气温度、湿度、大气 CO_2 浓度、光照强度、降水等的影响,这也就意味着在不同气候环境条件下同种植物的稳定性碳同位素组成 $\delta^{13}\text{C}$ 值也会存在较大差异,所以可以通过测定其在植物组织中和某些环境物质如土壤等的含量来揭示与植物生理生态过程相关的环境信息^[4-6]。

在植物生长过程中,氮是影响和限制植物生长的营养元素之一。氮同位素中 ^{14}N 和 ^{15}N 均为稳定同位素,常用 $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ 表示稳定氮同位素组成,以 $\delta^{15}\text{N}$ 表示,一般采用空气中氮为标准物质^[7]。植物组织中稳定性氮同位素组成 $\delta^{15}\text{N}$ 在很大程度上受到植物本身类型和植物的生长环境如气候条件、土壤状况等因素的影响,造成其不同地区间存在较大差异,即 $\delta^{15}\text{N}$ 值在一定的时间和空间上也可以揭示与植物生理生态过程相关的环境信息^[3,8],可作为产地溯源的指标之一。

基金项目 广东省科技计划公益研究与能力建设专项资金项目(2018-B030320007)。

作者简介 廖初琴(1998—),女,广东五华人,硕士研究生,研究方向:植物资源利用。*通信作者,教授,博士,从事植物多样性及其保护研究。

收稿日期 2021-10-28

2 同位素溯源的原理

稳定同位素分析目前已经越来越普遍应用于产地溯源,特别是在传统分析方法不能提供明确结果的情况下。自然界中生物体与其生存的外界环境不断进行物质交换,不同种类或来源的物质中的同位素受环境、生物代谢类型等因素影响会发生自然分馏效应,例如植物在固定 CO_2 时会因不同的光合羧化循环而发生碳分馏,进而使其自然丰度产生差异,这种差异因携带有环境因子的信息,能直接反映生物体所处的环境条件,因此可以通过这种差异来区分其可能的产地,从而实现产地溯源。换言之,产地溯源是根据自然分馏效应来实现的。自然生物体中稳定性同位素组成是物质的自然属性,具有独立性、不容易受人为因素的影响而被更改等特点,可作为物质的一种“自然指纹”来区分不同来源的物质。换言之,生物体中同位素指纹是外部环境在生物体中打下的“烙印”,因此可以把稳定同位素作为地理来源的过程指标和示踪剂^[9-10]。

3 稳定同位素在植物产地溯源中的研究

温周瑞等^[11]对贡湖湾、梅梁湾 10 种水生植物的稳定碳、氮同位素值进行了测定,研究表明水生植物不同种类之间、不同采样时间和采样点之间的稳定碳、氮同位素值不同,总体上季节性变化规律不明显,空间变化有一定规律性。即高等水生植物的稳定碳、氮同位素能够反映其生理生态学信息,因此今后在一定程度上可以根据稳定碳、氮同位素值对高等水生植物进行产地溯源。

Kornexl 等^[12]测定了巴西等橙汁主要生产国橙汁中果肉的 $\delta^{13}\text{C}$ 、 $\delta^{15}\text{N}$ 值,发现将 $\delta^{13}\text{C}$ 值和 $\delta^{15}\text{N}$ 值综合起来可以实现特征聚类从而将不同产地的橙汁区分开,而仅凭单一的 $\delta^{13}\text{C}$ 值或 $\delta^{15}\text{N}$ 值不能。陈历水等^[13]对哈尔滨、牡丹江、昌吉和塔城 4 个地区的黑加仑 (*Ribes nigrum*) 的果实、树叶、土壤和果汁进行了碳和氮稳定同位素比率研究,结果发现单一利用 $\delta^{13}\text{C}$ 指标、 $\delta^{15}\text{N}$ 指标对黑加仑果实整体的正确判别率分别为 47.8%、80.8%,而综合 2 个指标联合分析黑加仑果实产地溯源的准确率达 86.9%。Mimmo 等^[14]比较了波尔察诺、费拉拉、乌迪内、维罗纳 4 个地区的不同苹果 (*Malus pumila*) 品种的 $\delta^{13}\text{C}$ 、 $\delta^{15}\text{N}$ 值,发现 $\delta^{13}\text{C}$ 、 $\delta^{15}\text{N}$ 值能够区分不同产地的苹果,哪怕它们相距仅几百千米,溯源准确率高达 99%。王红云等^[15]对河北省赞皇、行唐、阜平 10 个枣园的大枣 (*Ziziphus jujuba*) 果肉中的 $\delta^{13}\text{C}$ 和 $\delta^{15}\text{N}$ 值进行了研究,研究表明利用稳定同位素技术对太行山中麓大枣进行产地溯源是可行的,同时使用碳、氮 2 种同位素比单独使用其中 1 种同位素进行产地溯源的正确率更高。

在药用植物方面,李国琛^[16]采集了辽宁、吉林、黑龙江、陕西、湖北、湖南和广西 7 个省(区)的五味子 (*Schisandra chinensis*) 样品,统计分析表明 7 个省(区)五味子 $\delta^{13}\text{C}$ 值和 $\delta^{15}\text{N}$ 均存在显著差异, $\delta^{13}\text{C}$ 与 $\delta^{15}\text{N}$ 是五味子产地溯源的良好指标。Maggi 等^[17]通过分析希腊等 4 个典型产区的 28 个藏红花 (*Crocus sativus*) 样品的稳定碳、氮、氢同位素组成进行产地溯源,结果表明利用稳定碳、氮、氢同位素来区分藏红花

地理来源是一种准确率较高、较为可靠的手段。李辉等^[18]测定 12 个不同产区冬虫夏草 (*Stachys geobombycis*) 以及 3 种亚香棒虫草的 $\delta^{15}\text{N}$ 和 $\delta^{13}\text{C}$ 值,成功建立了氮稳定同位素比值分析技术方法对冬虫夏草进行有效产地溯源。何忠俊等^[19]在获得来自 44 个地区的 3 年生春三七 (*Panax notoginseng*) 主根样品数据的基础上研究了 49 个生态指标与三七主根稳定碳同位素比率的数量关系,结果发现三七主根稳定碳同位素主要受到产地温度状况和经度的影响,因此可将其作为三七主根和相关产品产地溯源的主要指标,在实践中可以结合其他溯源指标使用。杜华^[20]对四川峨眉山、四川洪雅、陕西镇坪、云南贡山、湖北利川和重庆石柱等 6 个产地的 103 份黄连 (*Coptis chinensis*) 样品进行了稳定同位素分析,研究结果显示 $\delta^{13}\text{C}$ 与 $\delta^{15}\text{N}$ 的组合图可以对 6 个区域进行清晰分类,且比其他二维组合图区分更有效。张文丽等^[21]对不同产地竹节参 (*Panax japonicus*) 进行稳定性碳、氮同位素组合,研究表明对中国湖北五峰、湖北利川、贵州毕节和日本秋田的竹节参可实现有效的地域区分。杨燕等^[22]对来自甘肃、四川和云南产地当归 (*Angelica sinensis*) 中 $\delta^{13}\text{C}$ 、 $\delta^{15}\text{N}$ 稳定同位素比率和碳、氮元素百分含量进行了测定,发现当归中稳定碳、氮同位素等在多种环境因素共同影响下形成不同的“地域标签”,表明 $\delta^{13}\text{C}$ 、 $\delta^{15}\text{N}$ 可能是当归产地识别的重要指标。

在农作物方面,国内外则主要研究水稻 (*Oryza sativa*) 及小麦 (*Triticum aestivum*) 2 种粮食作物。Luo 等^[23]通过元素分析—同位素比质谱法测定了来自我国江苏省和山东省、澳大利亚、美国及加拿大的小麦样品的稳定同位素 $\delta^{13}\text{C}$ 、 $\delta^{15}\text{N}$ 值,研究表明不同来源、不同类型样品的 $\delta^{13}\text{C}$ 和 $\delta^{15}\text{N}$ 均值存在显著差异,结合 $\delta^{13}\text{C}$ 和 $\delta^{15}\text{N}$ 值进行同位素分析可有效辨别来自不同地域的小麦样品。刘宏艳等^[24]对来自 3 个不同省份的 27 份小麦及其制粉产品中的稳定碳、氮同位素进行研究,也得出相同的结论,即小麦及制粉产品中的稳定碳、氮同位素具有显著的地域特征,可作为用来追踪小麦及其制粉产品的原产地的有效指标。Wadood 等^[25]对惠县、杨凌、赵县的全麦及其制粉的稳定碳、氮同位素进行了研究,结果显示 $\delta^{13}\text{C}$ 、 $\delta^{15}\text{N}$ 对所有地区的样品进行了正确分类且分类正确率达到了 93.8%, $\delta^{13}\text{C}$ 、 $\delta^{15}\text{N}$ 可作为区分小麦地理起源的有效工具。谷维民等^[26]检测分析了我国 10 种产自于不同省份的大米的稳定同位素 $\delta^{13}\text{C}$ 和 $\delta^{15}\text{N}$ 值,研究结果表明基于大米的稳定同位素碳、氮特性能够实现对大米产地的溯源。除了水稻和小麦外,国内对马铃薯也进行了研究。张欣昕等^[27]对内蒙古、黑龙江、新疆、四川和广东马铃薯 (*Solanum tuberosum*) 样品的碳和氮同位素比值进行测定,发现不同地区的 $\delta^{13}\text{C}$ 值和 $\delta^{15}\text{N}$ 值存在显著性差异,基本可以成功区分不同产地的马铃薯样品,采用 $\delta^{13}\text{C}$ 和 $\delta^{15}\text{N}$ 建立的产地判别模型的判别正确率为 82.0%,表明 $\delta^{13}\text{C}$ 值和 $\delta^{15}\text{N}$ 值的组成也可应用于马铃薯产地的鉴别研究。

4 结论与展望

国内外利用稳定同位素进行产地溯源已有几十年,稳定

同位素具有检测灵敏度高、操作简单快捷、适用范围广、不会给环境造成二次污染等优点^[28],所以近年来对于这方面的研究和应用也越来越普遍,范围也越来越广。但目前对于利用稳定同位素追溯原产地大多还只停留在单一稳定同位素上,溯源的成功率还有待提升,而使用 2 种及 2 种以上稳定同位素或结合其他元素进行分析可能会有效地提高溯源的准确率。钟敏^[29]对 10 份来自我国 6 个不同地区的大米的稳定碳氮同位素进行测定,结果表明单一使用 $\delta^{13}\text{C}$ 或 $\delta^{15}\text{N}$ 溯源结果成功率较低,而综合使用稳定碳、氮同位素对大米产地溯源进行分析却能获得较好的结果。Miao 等^[30]的研究结果表明,珠江口红树林湿地中不同生境下的无瓣海桑 (*Sonneratia apetala*)、卤蕨 (*Acrostichum aureum*)、蜡烛果 (*Aegiceras corniculatum*) 的稳定碳、氮同位素组成存在较大差异,这可能是不同生境中的环境特征例如氮源存在的差异所引起的。Kornexl 等^[12]认为将稳定性碳和氮同位素组合起来对于一个给定的地点来说更具特征,成功结合两者将会是一种对植物进行产地溯源的有效工具。将稳定碳、氮同位素结合起来进行产地溯源研究可能会大大提高溯源成功率,这不失为一种快速建立同位素产地溯源数据库的好办法。目前稳定性同位素技术在植物上的研究大多专注于植源性农产品,对于野生濒危物种的产地溯源相关研究较少,今后可加深这一方面的研究,有助于更好地保护相关物种。

参考文献

[1] 唐志信,李春波,陈伟霖,等. 广东连州自然分布的 3 种植物体内及根际环境中稳定性碳和氮同位素的分析[J]. 植物资源与环境学报,2017,26(2):76-82.

[2] 王黎明,吴浩,林光辉. 稳定同位素技术在中药产地溯源方面的应用研究进展[J]. 同位素,2015,28(4):225-232.

[3] 庞荣丽,王书言,王瑞萍,等. 同位素技术在水果及制品产地溯源中的应用研究进展[J]. 果树学报,2018,35(6):747-759.

[4] 蒋高明,耿龙年,陈业材. 植物样品中碳、硫稳定同位素的测试[J]. 植物学报,1995,12(S2):230-237.

[5] 赵丹,程军回,刘耘华,等. 荒漠植物梭梭稳定碳同位素组成与环境因子的关系[J]. 生态学报,2017,37(8):2743-2752.

[6] 闫峻,金贵善,刘汉彬,等. 植物崧蓝稳定碳同位素组成与生态因子的关系[J]. 世界核地质科学,2021,38(1):91-96.

[7] 袁玉伟,张永志,付海燕,等. 茶叶中同位素与多元特征及其原产地 PCA-LDA 判别研究[J]. 核农学报,2013,27(1):47-55.

[8] 刘艳杰,许宁,牛海山. 内蒙古草原常见植物叶片 $\delta^{13}\text{C}$ 和 $\delta^{15}\text{N}$ 对环境因子的响应[J]. 生态学报,2016,36(1):235-243.

[9] 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.

[10] GUO B L,WEI Y M,PAN J R,et al. Stable C and N isotope ratio analysis for regional geographical traceability of cattle in China[J]. Food chemistry,2010,118(4):915-920.

[11] 温周瑞,徐军,谢平. 太湖高等水生植物稳定碳、氮同位素特征[J]. 湖泊科学,2016,28(1):163-169.

[12] KORNEXL B E,ROßMANN A,SCHMIDT H L. Improving fruit juice origin assignment by combined carbon and nitrogen isotope ratio determination in pulps[J]. Zeitschrift für lebensmittel-untersuchung und-forschung,1996,202(1):55-59.

[13] 陈历水,丁庆波,苏晓霞,等. 碳和氮稳定同位素在黑加仑产地区分中的应用[J]. 食品科学,2013,34(24):249-253.

[14] MIMMO T,CAMIN F,BONTEMPO L,et al. Traceability of different apple varieties by multivariate analysis of isotope ratio mass spectrometry data[J]. Rapid communications in mass spectrometry,2015,29(21):1984-1990.

[15] 王红云,高占峰,付才,等. 河北太行山中麓大枣产地溯源初探[J]. 食品安全质量检测学报,2017,8(8):2994-3000.

[16] 李国琛. 五味子产地溯源技术研究[D]. 北京:中国科学院大学,2011.

[17] MAGGI L,CARMONA M,KELLY S D,et al. Geographical origin differentiation of saffron spice(*Crocus sativus* L. stigmas)-Preliminary investigation using chemical and multi-element (H,C,N) stable isotope analysis[J]. Food chemistry,2011,128(2):543-548.

[18] 李辉,姚粟,刘洋,等. 稳定同位素碳、氮在冬虫夏草原产地鉴别中的应用[J]. 食品与发酵工业,2014,40(7):173-176.

[19] 何忠俊,梁社往,丁颖,等. 三七主根稳定碳同位素组成与生态因子的关系[J]. 生态环境学报,2015,24(4):561-568.

[20] 杜华. 基于高分辨质谱和同位素质谱的黄连产地快速鉴定技术研究[D]. 重庆:重庆医科大学,2020:30-42.

[21] 张文丽,吴浩,梅宇晨,等. 基于稳定同位素技术的竹节参产地识别研究[J]. 中草药,2020,51(23):6070-6076.

[22] 杨燕,刘峰,李晓波. 基于稳定同位素比率及微量元素含量差异的当归产地溯源分析[J]. 中药材,2020,43(11):2650-2656.

[23] LUO D H,DONG H,LUO H Y,et al. The application of stable isotope ratio analysis to determine the geographical origin of wheat[J]. Food chemistry,2015,174:197-201.

[24] 刘宏艳,郭波莉,魏帅,等. 小麦制粉产品稳定碳、氮同位素组成特征[J]. 中国农业科学,2017,50(3):556-563.

[25] WADOOD S A,GUO B L,LIU H Y,et al. Study on the variation of stable isotopic fingerprints of wheat kernel along with milling processing[J]. Food control,2018,91:427-433.

[26] 公维民,马丽娜,王飞,等. 我国大米碳氮稳定同位素比率特征及溯源应用[J]. 农产品质量与安全,2019(4):9-12,40.

[27] 张欣昕,张福金,刘广华,等. 基于矿物质元素和稳定同位素的马铃薯产地溯源技术[J]. 食品科学,2020,41(18):296-302.

[28] 王鹏飞,沈娟章,谭卫红. 稳定同位素技术在林产品产地溯源和掺假鉴别中的应用研究进展[J]. 浙江农林大学学报,2018,35(5):968-974.

[29] 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,2013:24-45.

[30] MIAO S Y,LONG L D,TAO W Q,et al. Composition of stable carbon and nitrogen isotopes in five wetland plants and sediments from the Pearl River estuary,South China[J]. Chemistry and ecology,2016,32(7):609-623.

(上接第 15 页)

[14] 张洁,杨茂发. 食蚜瘿蚊对 3 种蚜虫捕食作用的研究[J]. 安徽农业科学,2007,35(36):11897-11898.

[15] 唐天成,张艳,李程锦,等. 中华通草蛉和大草蛉幼虫对黑刺粉虱若虫的捕食功能反应[J]. 应用昆虫学报,2018,55(2):217-222.

[16] SHOVON CHANDRA SARKAR. 大草蛉对诱集作物紫花苜蓿的行为反应及对西花蓟马的生物防治[D]. 北京:中国农业科学院,2018.

[17] 尹哲,李金萍,董民,等. 东亚小花蝽对西花蓟马、二斑叶螨和桃蚜的捕

食能力及捕食选择性研究[J]. 中国植保导刊,2017,37(8):17-19.

[18] 唐艺婷,王孟卿,李玉艳,等. 蝾螈对斜纹夜蛾幼虫的捕食作用[J]. 中国烟草科学,2020,41(1):62-66.

[19] 张帆,李姝,王魁. 可持续利用天敌昆虫防治设施蔬菜害虫的进展及模式创新[J]. 农业工程技术,2017,37(31):16-20.

[20] 张艳璇,单绪南,林坚贞,等. 胡瓜钝绥螨控制日光大棚甜椒上的西花蓟马的研究与应用[J]. 中国植保导刊,2010,30(11):20-22.

[21] 张帆,李姝,肖达,等. 中国设施蔬菜害虫天敌昆虫应用研究进展[J]. 中国农业科学,2015,48(17):3463-3476.