

农产品原产地 鉴定技术研究

Nongchanpin Yuanchandi Jianding Jishu Yanjiu

夏立娅 著

 中国质检出版社
中国标准出版社

农产品原产地鉴定技术研究

夏立娅 著

中国质检出版社
中国标准出版社
北 京

图书在版编目 (CIP) 数据

农产品原产地鉴定技术研究/夏立娅著. —北京: 中国质检出版社, 2016. 9

ISBN 978 - 7 - 5026 - 4344 - 7

I. ①农… II. ①夏… III. ①农产品—产地—鉴定—研究—中国 IV. ①F326.5

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2016) 第 206394 号

内 容 提 要

本书综述了农产品产地鉴定技术的研究进展, 分析了元素指纹、有机成分产地指纹、近红外光谱技术、阴离子指纹分析等鉴定方法的原理、特点和应用, 通过具体的试验数据, 分析了农产品原产地鉴定方法的有效性和可行性。论点清晰, 论据充分。

本书可以为相关研究者提供参考, 也可以为农产品检验、农产品品质评定等专业的本科生、研究生提供试验指导。

中国质检出版社 出版发行
中国标准出版社

北京市朝阳区和平里西街甲 2 号 (100029)

北京市西城区三里河北街 16 号 (100045)

网址 www.spc.net.cn

总编室: (010) 68533533 发行中心: (010) 51780238

读者服务部: (010) 68523946

中国标准出版社秦皇岛印刷厂印刷

各地新华书店经销

*

开本 787 × 1092 1/16 印张 7 字数 156 千字

2016 年 9 月第一版 2016 年 9 月第一次印刷

*

定价: 28.00 元

如有印装差错 由本社发行中心调换

版权专有 侵权必究

举报电话: (010) 68510107

序

Preface



为了保护地域特色产品,传承民族文化遗产,提升地域特色产品的国际知名度和竞争力,我国于2005年颁布了《地理标志产品保护规定》,正式实施地理标志产品的保护工作。由于地理标志产品独特的品质和品牌影响力,其价格远高于市场中同类普通产品。但在经济利益的驱动下,假冒伪劣的地理标志产品广泛存在于市场中。同时,随着人民生活水平的提高,对农产品品质的要求相应提高,对农产品产地的关注度不断提升。在此背景下,如何准确鉴别农产品的产地成为了研究热点。

本书综述了农产品产地鉴定技术的研究进展,分析了元素指纹、有机成分产地指纹、近红外光谱技术等鉴定方法的原理、特点和应用方法,通过具体的试验数据分析,阐述了农产品原产地鉴定方法的有效性和可行性。论点清晰,依据充分,不仅为相关研究者提供可靠的参考,也为农产品原产地鉴定技术的发展提供了思路。

作者长期从事地理标志产品保护研究工作,在农产品产地鉴定领域深入研究多年;主持了质检公益科研专项“‘双打’重点地理标志保护产品原产地检验鉴定技术方法研究(2012104019)”、国家自然科学基金“冬枣产地特征元素筛选与溯源方法研究(31501447)”、河北省自然科学基金“冬枣产地特征元素筛选与溯源方法研究(B2013201235)”、河北大学自然科学基金“典型植物类农产品原产地鉴别方法研究(2014-02)”等项目;在该领域发表学术论文20余篇,授权发明专利5项;多次参加国内外学术会议,与国际相关机构保持信息交流,密切关注前沿研究进展,在地理标志产品保护领域具有一定的影响力。

原产地鉴定技术是农产品品质评定的有力工具,也将为地理标志产品的保护提供技术支撑,但是在理论和技术方面还有许多问题有待深入研究。希望本书能够抛砖引玉,促使多学科的科技人员积极参与,相互合作,共同推动农产品原产地鉴定技术的发展。

李小花
2016年8月



本书由质检公益科研专项“双打”项目——“双打”重点地理标志保护产品原产地检验鉴定技术方法研究(2012104019)、国家自然科学基金——冬枣产地特征元素筛选与溯源方法研究(31501447)、河北省自然科学基金——冬枣产地特征元素筛选与溯源方法研究(B2013201235)、河北大学自然科学基金——典型植物类农产品原产地鉴别方法研究(2014-02)资助出版。

随着消费者对农产品产地关注度的提高,与产地鉴定相关的各种主题便成为重要的研究领域。目前,很多国家通过法规条文等形式对地理标识的使用进行了管理,以便于消费者更加准确地掌握农产品的产地,同时也对地域特色产品进行保护。在制度的执行过程中,如何识别农产品产地的虚假信息已成为技术难点。目前,关于农产品产地鉴别方法的相关研究已经展开,主要是通过各种检测手段结合计量学分析方法建立产地鉴别模型。

本书综述了农产品产地鉴定技术的研究进展,结合已有的研究成果,分析了元素指纹、有机成分产地指纹、近红外光谱技术等鉴定方法的原理和特点。综合课题组多年的研究成果,分享了基于矿物元素指纹分析的响水大米鉴别方法、基于矿物元素指纹分析的黄骅冬枣鉴别方法、基于近红外光谱技术的响水大米鉴别方法、基于近红外光谱技术的黄骅冬枣鉴别方法、基于近红外光谱技术的龙泉灵芝孢子粉鉴别方法、基于大米乙酸乙酯提取物指纹图谱的响水大米鉴别方法、基于高效液相色谱指纹图谱的板桥党参鉴别方法、基于阴离子指纹的响水大米鉴别方法和基于矿物元素耦合阴离子的板桥党参鉴别方法。

本书是河北大学质量技术监督学院、河北省计量仪器与系统工程实验室在地理标志产品保护领域长期研究的成果,感谢河北大学李小亭副校长的关心鼓励和支持,感谢参与本书研究工作的陈培云、王庭欣、刘峥颖、张晓瑜、庞艳苹、赵志磊等老师。

由于编写时间仓促,编者水平有限,缺点和错误在所难免,恳请读者给予批评指正。

著者

2016年8月



第1章 农产品原产地鉴定技术体系概述	/ 1
1.1 地理标志产品及原产地鉴定的意义	/ 1
1.2 农产品原产地鉴定技术研究进展	/ 3
1.3 相关化学计量学方法的基本原理及应用	/ 8
第2章 原产地元素指纹鉴定技术原理及应用	/ 23
2.1 原产地元素指纹鉴定技术的原理	/ 23
2.2 原产地元素指纹获取的方法学研究	/ 24
2.3 矿物元素产地指纹鉴定技术的应用	/ 27
2.4 原产地矿物元素指纹鉴定技术的特点与展望	/ 45
第3章 近红外光谱技术在农产品原产地鉴定中的应用	/ 48
3.1 近红外光谱技术用于农产品原产地鉴定的原理	/ 48
3.2 近红外光谱技术原产地鉴别的方法学研究	/ 48
3.3 近红外光谱技术在农产品原产地鉴别中的应用	/ 49
3.4 近红外光谱技术用于原产地鉴别的特点及展望	/ 65
第4章 有机成分产地指纹图谱鉴定技术原理及应用	/ 67
4.1 有机成分产地指纹图谱原理	/ 67
4.2 有机成分产地指纹图谱方法学研究	/ 68
4.3 有机成分产地指纹图谱鉴定技术的应用	/ 69
4.4 有机成分产地指纹图谱鉴定技术的特点与展望	/ 88
第5章 其他技术在农产品原产地鉴定中的应用	/ 90
5.1 阴离子指纹分析	/ 90
5.2 电子鼻技术	/ 97
5.3 多种技术相互结合分析	/ 98
第6章 农产品原产地鉴定技术体系的完善及展望	/ 102

第 1 章

农产品原产地鉴定技术体系概述

1.1 地理标志产品及原产地鉴定的意义

1.1.1 地理标志产品

我国是一个历史文明古国，悠久的历史、丰富的传统文化以及多样的气候和地理条件孕育了大批的原产地特色产品。这些产品的品质具有很强的地域特征，潜藏着巨大的经济价值和文化价值。为了保护地域特色产品，传承民族文化遗产，提升地域特色产品的国际知名度和竞争力，我国于 2005 年颁布了《地理标志产品保护规定》，正式实施地理标志产品的保护工作。在《地理标志产品保护规定》中对地理标志产品的定义为：产自特定地域，所具有的质量、声誉或其他特性本质上取决于该产地的自然因素和人文因素，经审核批准以地理名称进行命名的产品。包括：来自该地区的种植、养殖产品；原材料全部来自该地区或部分来自其他地区，并在该地区按照特定工艺生产和加工的产品^[1]。

自 2005 年起，我国已经对茶叶、谷物、水果、药材等上千个原产地域产品实施了地理标志产品保护，产地范围涉及了 30 多个省市，其中 94% 以上的地理标志产品涉及农产品。

地理标志保护的农产品具有的基本特征包括^[2]：

(1) 地理标志是一种指示性标记，标示着特定的地域、地区或者地点。它由文字、图形或其他可视要素组成，标明原产地的地理位置，对于这种标志的最低要求是达到指示他人识别商品来源的目的。

(2) 地理标志产品具有更高的经济价值，它与产品的特定质量和信誉相互关联。

(3) 地理标志产品的质量与产地的自然环境或者人文因素关系密切，或者说产品品质特点在本质上可归因于产地独特的自然生态环境和人文历史因素。

1.1.2 世界各国对于地理标志产品的保护

地理标志产品被认为是一个国家资源禀赋、传统文化和地理文化遗产的代表，一直以来都被各个国家所重视。法国是最早实施原产地域名称保护（简称原产地保护）的国

家^[3]。1919年,法国为保护葡萄酒颁布了《原产地名称法》。1935年,设立了“葡萄酒和烈性酒的国家原产地登记保护管理委员会”,以保护葡萄酒和烈性名酒,并形成了原产地命名控制体系(AOC)。法国原产地保护制度的建立和实施,极大地促进了相关产业的发展,在公平贸易和消费者认知等方面也取得了巨大成功。20世纪末,欧洲的其他国家也开始积极推进地域特色农产品的保护工作。但是,原产地保护的相关制度过度强调了产品原产地和地域环境的一致性,阻碍了现代农业的发展。后来的相关规定中,多采用地理标志的概念。目前,地理标志产品保护工作已经成为欧盟,特别是法国、葡萄牙、意大利等国家对于区域特色农业保护的主要措施,在国际贸易中也逐渐成为市场卖点^[4]。

1994年4月15日,《与贸易有关的知识产权协议》,简称《知识产权协议》签署,并于1995年1月1日生效,是世界贸易组织管辖的一项多边贸易协定,被世贸组织全体成员国认可。《知识产权协议》第22条对地理标志的定义是:“标示出某商品来源于某成员地域内,或来源于该地域中某地区或某地方,该商品的特定质量、信誉或其他特征,主要与该地理来源相关联的标志。”《知识产权协议》是地理标志产品的最低保护标准,各国可依据各自国情制定更严格的相关措施。

日本在地理标志产品保护方面也建立了相应的法律制度,维护原产地产品相关利益,防止虚假标示产品产地的行为,保护消费者的权利。日本主要利用《不正当竞争防止法》《商标法》等方面的法律保护地理标志产品,主要是禁止欺骗性的原产地来源标识。2005年,日本修订了《商标法》,允许具有经济价值较高的产品用“产地名称+商品通用名称”组成“地域团体商标”作为“团体商标”进行注册^[5],对地理标志产品进行了更加积极的保护,并且极大地扩大了保护领域^[5]。

美国国家的历史较短,依靠传统工艺和地理人文环境的产品较少,没有太多的地域特色产品,大多没有形成保护地理标志产品的传统,多数通过商标法对地域特色产品进行保护。目前,美国主要是依靠联邦商标法(即1946年的Lanham Act,兰哈姆法)、酒类的相关法规、各州建立的商标法和反不正当竞争法来进行保护^[6]。美国地理标志保护体系虽然头绪较多,层级较杂,但成文法和判例法相结合,联邦法和州法相配套,对地理标志提供不问程度和不同角度的保护,形成了较为完善的保护模式。

虽然世界各国对地理标志的保护方法各有不同,但均从商标保护、消费者保护法、反不正当竞争法或单独立法保护等方面对其进行了有效的保护。同时,各个国家在地理标志产品保护方面积极合作,扩大相互认证范围。新华网2012年12月1日报道,10种中国农产品(平谷大桃、盐城龙虾、镇江香醋、东山白芦笋、金乡大蒜、龙井茶、琯溪蜜柚、陕西苹果、蠡县麻山药和龙口粉丝)在欧盟成功注册地理标志保护,同时欧盟也有10种农产品(洛克福奶酪、阿让李子干、帕加诺奶酪、帕尔玛火腿、科多瓦橄榄油、马吉娜橄榄油、孔蒂奶酪、斯提尔顿奶酪、苏格兰农家三文鱼和农舍奶酪)在中国享受地理标志保护。

1.1.3 地理标志产品保护的意义

地理标志保护的意义是由其本身的特性所决定的。地理标志产品的品质和特征与其原产地的自然因素和人文因素关系密切,并且历史悠久,形成了良好的口碑和知名度,被消

费者广泛认可。

首先,地理标志的使用和推广有利于保护地域特色产品的品牌,提升产品的市场竞争力,提高产品在消费者心目中的信誉。地理标志产品由于其特定的品质和知名度,其市场价格远高于同类普通产品,所以地理标志的使用可以防止假冒伪劣产品干扰。例如,2000年安溪铁观音茶获得商标注册,其市场的知名度和消费者信誉度得到空前提高,国内外市场逐步扩大,销售额逐年稳步增长,至2012年年出口创汇额达6000多万美元。再如,“天津小站稻”地理标志获得保护后,每千克的收购价格普遍上涨了15%~20%^[7],极大促进了相关产业发展。

其次,地理标志保护工作利于传统民族文化的弘扬,利于当地人民知识产权的保护。由于部分地域特色产品的独特品质归结于当地独特的种植加工技术,是当地人民世代创造和积累的结果,凝聚着当地人民的智慧和经验。例如,贵州茅台酒蒸馏工艺和龙井茶的炒制工艺,都是经过漫长的历史积淀而逐步形成。这种文化遗产,既不归个人所有,也不归国家所有,是产地居民的集体财产。地理标志产品的保护和推广,也是对当地文化的保护和推广。同时,对于相关传统知识的弘扬和传承,对产品附加声誉的提升有着积极的帮助。

1.1.4 产地鉴别技术对于地理标志工作的意义

由于地理标志产品独特的品质和品牌影响力,其价格远高于市场中同类普通产品。在经济利益的驱动下,假冒伪劣的地理标志产品广泛存在于市场中。甚至有些像响水大米、西湖龙井、黄骅冬枣等符合地理标志特征的名、优、特农产品,因为没有得到有效的保护,地理标志被滥用,导致市场上假冒伪劣的地理标志产品广泛存在。

为整顿市场秩序,推动地理标志产品的管理工作,迫切需要发展地标产品的识别方法和农产品产地的溯源技术,以增强相关法规条例的可执行性。因此,国内外各专家学者不断借鉴相关学科方面的知识,积极探索用于产地鉴别的有效技术方法。该领域的发展必将为地理标志产品的保护提供有力的技术支撑。

1.2 农产品原产地鉴定技术研究进展

农产品原产地鉴定又称为溯源(Tracing),所谓溯源是指从供应链下游向上游识别一个特定产品或一批产品来源的过程^[8]。农产品溯源体系(food traceability system)的发展是在全球范围内农产品安全事件频繁爆发的背景下,欧盟为应对“疯牛病”问题而逐步建立并完善起来的农产品安全管理制度。它是一项涉及多部门、多学科知识的复杂的系统工程,需要相应的科技体系作为支撑。其中,农产品产地特征属性的表征、农产品品种及产地的识别方法等是农产品溯源体系的重要组成部分。

其中,农产品原产地鉴定的关键是确定能表征产品产地信息的特异性指标。例如,矿物元素、有机化学成分等与产地的环境气候等自然条件有关,可以分析其产地特征性,实现对农产品的产地来源及真实性的鉴别。目前,农产品产地溯源的分析技术集中于稳定性同位素、DNA指纹、矿物元素指纹、有机组分特征含量、近红外光谱等领域。

1.2.1 稳定同位素技术在农产品产地溯源中的应用

稳定同位素是不发生或极不易发生放射性衰变的同位素,广泛存在于空气、水、土壤、动植物和人体内,常用作示踪剂来标记化合物用于各项科学研究中。稳定同位素在自然界中存在自然分馏效应,据此可将稳定同位素含量用于产地溯源分析中。农作物在生长过程中受到产地气候、土壤、水源等因素的影响,体内稳定同位素发生分馏,导致自然丰度发生变化。这种差异与产地环境关系密切,能够反映产地环境的特征性,可用于农产品产地的溯源分析^[9]。

农作物中的同位素组成与其生长的地域和环境关系密切,H、O、C、N、S、B、Sr和Pb等稳定同位素常用于农产品的产地溯源。国际上,较早的成熟应用是在葡萄酒产地的溯源方面。自1990年起,欧盟就从不同国家收集葡萄酒样品,建立了不同地域葡萄酒中氢同位素组成数据库(欧盟法规2676/90)。后续的研究中,稳定同位素O、C、B和Sr分别用于不同产地葡萄酒的分析^[10~12]。而且有关学者研究发现,葡萄酒中锶同位素组成受季节、气候及加工工艺的影响较小,是判断葡萄酒地域来源比较理想的指标^[10~13]。同时,锶同位素也被证实是果汁、咖啡产地溯源的有效参数^[14,15]。Branch S等学者比较了同位素C和N在小麦产地溯源中的应用,认为C同位素是一项有效的指标^[16]。同时,稳定同位素也被用于蜂蜜^[17,18]、橄榄油^[19]、茶叶^[20]、土豆^[21]等农产品的产地溯源中。

在大米的产地溯源方面,Oda H等学者研究结果表明澳大利亚、美国和日本3个国家的糙米中, $^{11}\text{B}/^{10}\text{B}$ 和 $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ 值范围不同,可利用 $^{11}\text{B}/^{10}\text{B}$ 和 $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ 区分3个国家产的糙米^[22,23]。Suzuki Y的科研团队测定了不同国家相同品种的大米样品中的 $\delta^{13}\text{C}$ 、 $\delta^{15}\text{N}$ 、 $\delta^{18}\text{O}$ 值以及C、N含量,并利用雷达图将日本大米与其他国家大米区别出来^[24]。2013年,进一步发现大米脂肪酸中的同位素氢含量与产地水源和温度密切相关,可以代表产地的特征信息^[25]。Korenaga T等日本学者测定了日本、美国、澳大利亚、泰国、越南和中国的163个大米样本中稳定同位素(H、C、N、O)组成,解释了大米中同位素特征与产地环境的相关性^[26]。

虽然稳定同位素在产地溯源方面的应用得到了广泛的认可,但也存在一定的局限性。例如,农作物中 ^{15}N 的丰度值与人为施加肥料关系密切,施加肥料的密度变化会导致试验结果的不稳定;氢和氧同位素是理想的产地识别因子,其含量受降水、气候、地形等环境因素的影响较大,但是在气候和地形相似地区的产品识别方面正确率较低^[27]。硫等同位素产地环境之间的关系尚不明确^[28],锶等同位素的含量极低,稳定性较差,在产地溯源方面灵敏度较低。已有的文献报道中也表明,稳定同位素溯源分析在距离较远的产地间效果较好,而对于空间距离较近的产地,同位素分布的差异性较弱,仅依赖一种或几种同位素进行产地鉴别较为困难。此外,稳定同位素分析的仪器设备较贵,分析成本较高,致使该技术的普及应用受到限制。

1.2.2 多元素分析技术在农产品产地溯源中的应用

农产品尤其是农产品中矿物元素的含量及分布与其生长的自然环境关系密切,不同产

地环境中矿物元素的分布存在差异,而这种差异可以反映到农产品中^[29]。与有机化合物等溯源因子相比,矿物元素更加稳定,被认为是有效的产地标记物^[30~35]。

利用矿物元素对产地进行溯源的关键是寻找与产地环境关系密切的元素,了解农产品中矿物元素分布与产地环境间的迁移变化规律。云南农业大学的曾亚文及其研究团队在大米的元素分布与产地环境关系上做了大量研究,他们提出糙米中矿质元素含量的地带性特征与生物多样性中心、矿产资源富集区、生命起源及其山脉、河流有关^[36]。分析了糙米、精米与土壤中 S、Mo、Ba、Ni、Fe、Cr、Na、Al、Cu、P、Sn、Zn、B、Mn、Mg、Ca、Sr 和 K₁₈ 种元素间的相关性,结果表明大米与土壤中 S、Mo、Sr、Ni、Zn、Cr 元素达到极显著相关,同时土壤中 Fe 和 Al 含量与糙米中 Fe 和 Al 含量呈正相关^[37]。黄淑贞老师检测了水稻及产地土壤中 N、Fe、Zn、Ti 等 13 种元素含量,并分析了两者的相关性,证实了稻米中的矿物元素分布特征与土壤中元素分布特征显著相关^[38]。Sommella A 证实意大利大米中总砷、无机砷、总硒和总镍的含量与产地环境关系密切^[39]。中国农科院的魏益民教授对小麦中矿物元素分布与土壤和品种的关系进行了研究,指出小麦中 Na、Ca、Fe、Zn 和 Mo 的含量与产地关系密切,而 Mg、Mn、Cu 和 Ba 的含量与小麦品种关系密切,因此 Na、Ca、Fe、Zn 和 Mo 是小麦产地溯源的有效元素^[40]。Mariavittoria Zampella 等学者考察了土壤中 Mn、Cu、Zn、Rb 等多种元素及土壤性质与作物中元素含量的关系,并依此建立了可靠产地溯源方法^[41]。

农产品中的元素组成受到产地生态环境的影响。某些区域具有特定的元素的“指纹”。虽然,它可能会因各种因素,如施肥,耕地的气候条件,往年耕种作物等影响。但是,有研究表明,总体上产地对农产品中矿物元素的影响大于品种、气候条件、人为因素等带来的影响,通过选择合理的元素,可建立稳定的产地鉴别模型^[42, 43]。考虑到土壤中元素的生物利用度,以及元素间的协同和拮抗效益,选择适当的元素组合和计量方法是解决该问题的主要途径。赵海燕等人分析了在两年中,我国四个省份 240 个样本中 15 种元素的含量,通过逐步判别分析筛选了 Mg、Ca 等 5 种元素进行小麦产地分析,可以准确鉴别小麦产地,同时也证明虽然环境和人为因素存在一定不确定性,但多元素指纹分析用于产地溯源是可行的^[44]。A González 分析了西班牙、日本、巴西、意大利、巴伦西亚 Arros 的 153 个大米样本中 Al、As、Ba、Bi、Cd 等 32 个元素含量,建立了线性判别(LDA)模型,对西班牙大米进行鉴别的正确率为 91.30 %^[45]。Yasui 等学者测定了不同区域大米样品中 19 种矿物元素的含量,并筛选出 Mg、Ba、Mo、Cu 等 13 种元素作为产地分析元素,利用多元统计分析可以识别大米的产地^[46]。Li G 等测定了中国不同产地大米中钙、钾、镁、磷、硼等 15 种元素的含量,利用 Fibonacci 指数分析法建立的产地溯源方法准确度较高^[47]。Cheajesadagul P 等学者利用高分辨 ICP-MS 检测了来自不同国家的大米样本中 21 种元素的含量,建立的判别分析模型对大米产地溯源的回代检验正确率为 100 %,交叉检验正确率为 90.32 %^[48]。

为了增加产地鉴别的准确性,将稳定同位素与矿物元素共同分析被认为是有效的方法。Kelly 分析了来自不同国家大米样品中的微量元素 B、W、Ho、Rb、Gd、Mg 和 Se 的含量以及稳定同位素 $\delta^{13}\text{C}$ 和 $\delta^{18}\text{O}$ 值,这些数据共同用于大米样品产地的判别分析中,判别准确率可达 100 %^[49]。日本学者 Kaoru Ariyama 分析了日本、美国、中国和泰国的 350 个大米样本中 $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ 和 Pb 同位素 (^{204}Pb , ^{206}Pb , ^{207}Pb 和 ^{208}Pb) 比率和 Al, Fe, Co,

Ni, Cu, Rb, Sr 和 Ba 含量, 利用 PCA、LDA、KNN、SIMCA 等算法对数据进行了分析, 对大米产地鉴别正确率最高可达 97 %。同时也表明同位素和多元素分析相结合是溯源农产品产地的有效方法^[50]。Branch 等学者测定了来自不同国家的小麦样品中 Cd 和 Se 的含量, 并且分析了样本中稳定同位素比值 $^{208}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$ 、 $^{207}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$ 、 $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ 以及 $\delta^{13}\text{C}$ 、 $\delta^{15}\text{N}$ 值, 共同用于对小麦产地鉴别的正确率可达 100 %^[51]。

结合多种计量学算法的矿物元素指纹分析技术, 在农产品产地溯源应用中取得了理想的效果, 尤其在小范围内仍可以准确的溯源农产品产地, 很好地解决了稳定同位素技术难以克服的难题。但同时, 该技术在农产品产地溯源方面的研究很不系统, 还未建立一整套理论体系, 需要更多理论依据的支撑, 仍处于可行性分析阶段。需要在以下方面展开进一步研究: 如何筛选有效并且稳定的产地溯源元素, 以克服气候和人为因素带来的不稳定性; 元素在环境和作物中的迁移规律究竟怎样; 影响作物对元素吸收和累积的环境因素有哪些等方面。

1.2.3 近红外光谱技术在农产品产地溯源中的应用

近红外光 (NIR) 是指介于可见光和中红外光之间的电磁波, 波长范围是 780 ~ 2526nm, 波数范围为 4000 ~ 12820 cm^{-1} , 包含丰富的含氢基团, 如 C-H、O-H、N-H 等振动引起的倍频和合频吸收峰。这些吸收峰的吸收频率特征性较强, 受分子内外环境的影响较小, 而且一般样品的光谱特性比较稳定, 利于近红外光谱分析的分析^[52]。由于不同基团或同一基团在不同环境中产生的光谱在吸收峰位置和强度上有所不同, 样品中成分组成或者结构的变化均会引起近红外光谱特征的变化^[53]。农作物中有机组分的组成及含量与其产地环境的特征关系密切, 不同地域来源的农作物中化学成分含量及组成均存在差异, 因此产品的近红外光谱能够反映产地的地域特征信息, 可用于产品的产地鉴别。由于近红外光谱分析技术具有分析速度快、不破坏样品、成本低、光谱测量方便, 且能够最大限度地保留不同产地样本间的微小差异等优点, 目前已经被用于干酪、橄榄油、蜂蜜、葡萄酒等农产品的产地鉴别, 取得了很好的效果^[54~60]。

Cozzolino 等收集了 269 个白葡萄酒样品的近红外光谱, 利用主成分分析和偏最小二乘回归方法对近红外光谱数据进行了分析, 初步建立了葡萄酒的溯源模型, 对 Riesling 葡萄酒和 Chardonnay 葡萄酒的识别率分别为 100 % 和 96 %^[61]。Liu 等^[62, 63]将偏最小二乘判别分析、线性判别分析和逐步线性判别分析方法用于葡萄酒产地的近红外光谱识别中, 取得了较好的效果。Niu 等^[64~67]采用近红外光谱技术结合主成分分析、判别分析和偏最小二乘判别等算法对米酒中氨基酸、糖等质量指标进行了预测, 并对米酒的品牌进行了分类, 准确率最高可达到 100 %。Galtier 等学者^[68~71]利用近红外光谱技术结合偏最小二乘算法建立了橄榄油中脂肪酸、三酰甘油等含量的定量分析预测模型, 并对橄榄油的产地进行了有效识别。Casale 等^[72]分析了 195 个意大利橄榄油样本的近红外光谱图, 结合多元统计学算法建立了产地识别模型, 结果表明模型的预测能力良好, 灵敏度高。Iizuka 等^[73, 74]采用线性判别, 偏最小二乘和人工神经网络算法对日本不同产地的酱油样本近红外光谱数据进行了分析, 结果表明偏最小二乘分析模型的判别正确率较高。Arana 等^[75]采用近红外光谱结合 PLS 方法对来自西班牙的葡萄进行产地鉴别, 产地识别正确率最高达 97.2 %。Fu 等^[76]

采用傅里叶变换近红外漫反射光谱仪结合 PCA、PNN 算法对枇杷产地进行鉴别,校正集和验证集样品的识别率分别为 97 % 和 86 %。这一系列的研究表明,近红外光谱结合模式识别技术能够有效地用于产品的产地溯源分析。

虽然,近红外光谱在产地溯源领域的应用得到广泛认可,但关于近红外光谱技术溯源机理的研究报道较少。目前广泛认为,不同产地来源的农产品,因其生长环境中气候、温度、水质、土壤等不同,导致农产品中蛋白质、脂肪、水分等含量存在差异,因而样本的近红外光谱存在差异,借助一定的模式识别方法分析不同产地样本间的差异,则可鉴别不同产地的样本^[77]。郭波莉等指出不同产地和饲喂不同饲料的牲畜,其个体之间碳同位素组成存在较大差异,而近红外光谱含有 C-H 基团倍频与合频吸收带,不同产地之间的牛肉近红外光谱差异可能与碳同位素组成有关^[78]。

近红外在大米中的应用主要集中在预测大米中元素^[79, 80]、氨基酸^[81]、直链淀粉^[82]、蛋白质^[83]等含量方面。Namaporn 等建立了近红外光谱技术鉴别大米品种的方法^[84],Kim SS 利用近红外光谱建立了大米认证的方法^[85]。对于大米产地的近红外鉴别方法报道较少。2003 年, Kim 等人采用近红外光谱结合 PLS 模式识别方法对来自韩国及韩国以外的稻米进行了鉴别,结果表明识别率达到 100 %^[86]。

综合目前国内外的相关报道可看出,近红外光谱结合模式识别技术用于农产品的产地溯源是有效的,作为一种无损快速的分析方法,该技术具有广阔的应用前景。但同时还有许多问题待解决,主要表现在:(1)模型的有效性和稳定性与样本数目及代表性关系密切,需要采集大量具有代表性样本的近红外光谱,使模型具有普遍适用性。(2)目前近红外光谱用于产地溯源的机理还不清楚,有必要深入研究近红外光谱溯源机制,为其应用提供理论支撑。

1.2.4 有机组分指纹图谱技术在产地溯源中的应用

在农产品原产地溯源方面,许多学者借鉴“中药鉴别指纹图谱”的研究思路和技术,建立了不同产地农产品的特征组分指纹图谱,据此表达原产地农产品的质量特征^[87-91]。有机组分指纹图谱方法已经应用到酒类^[92]、橄榄油^[93]、奶酪^[94]等农产品的产地识别中,取得了很好的效果。Alonso-Salces 等^[95]测定了不同产地咖啡豆中的酚醛酸、肉桂酸和甲基黄嘌呤,结果表明酚酸和肉桂酸可以用于判别咖啡豆的产地,结合线性判别分析和偏最小二乘判别分析对咖啡豆的分类准确率达 94 % 以上。Latti 等^[96]分析了越橘中的花青素含量,依据花青素含量建立了芬兰南部和北部的越橘的识别方法,根据花青素含量和不同糖苷配基能准确区分越橘产地。张军翔等学者分析了不同酒龄葡萄酒花青素液相色谱指纹特征,发现葡萄酒的花青素指纹图谱可用于不同酒龄葡萄酒的区分^[97]。Chu Chen 等对不同来源的沙棘浆果中黄酮类化合物的 HPLC 进行了分析,确定了包括槲皮素、山奈酚、异鼠李素等 12 个化合物组成的指纹图谱,利用色谱指纹图谱相似度评价可以有效地识别 RS 和 RY 沙棘浆果^[98]。Yongnian Ni 等利用偏最小二乘法、主成分分析、K 近邻算法等分析了莪术高效液相色谱中 11 个共有峰的特征,建立了可以有效识别四个省份莪术的计量学方法^[99]。Sungun Kim 等人利用 HPLC 分析了不同产地 *Osterici* (麦冬) 和 *Notopterygii* (羌活) 中六个生物标志物 (nodakenin, oxypeucedanin, bisabolangelone, notopteryl, ...)

imperatorin, and isoimperatorin) 含量, 利用主成分分析和聚类分析可以准确判断产品的产地和质量^[100]。

Ollivier 等学者利用气相色谱法分析了不同产地、不同品种橄榄油中的甘油酸和脂肪酸组成及含量, 利用线性判别分析法建立的橄榄油地域和品种的识别方法, 识别正确率可达 100 %^[101]。Fernandez 等利用气质联用技术分析了牛乳样品中的萜类化合物, 结合化学计量学可将高原和平地产牛乳样品完全区分开^[102]。Longobardi 等学者的研究表明, 利用 15 种风味物质可以准确区分意大利三个不同产区的土豆样本^[103]。Rodriguez 等分析了不同产地葡萄酒中的酚类物质, 结合主成分分析和线性判别分析法对葡萄酒产地的判别率可达 100 %^[104]。Sass - Kiss 等利用高效液相色谱法测定了不同产地葡萄酒中的氨基酸和有机酸含量, 发现氨基酸是鉴别葡萄酒产地和真实性的有效指标^[105]。

在大米的产地溯源方法方面, 回瑞华等采用索氏提取法提取不同产地稻米中的脂肪油, 甲酯化处理后利用气相色谱 - 质谱法对其脂肪酸的成分和相对百分含量进行分析测定。结果表明, 从黑龙江稻米、辽宁稻米、吉林稻米、四川稻米、浙江稻米及深圳稻米油脂中鉴定出的脂肪酸, 分别占检出化合物总量的 98.95%、92.70%、84.28%、95.80%、93.46% 和 68.47%, 不饱和脂肪酸含量分别为 72.93%、69.21%、61.62%、68.62%、68.16% 和 51.11%^[106]。李红等比较了大米中角鲨烯的不同提取方法, 选用优化后的索氏提取/气相色谱 - 串联质谱 (GC - MS/MS) 法对不同产地大米中的角鲨烯进行定性及定量分析。结果表明该方法的灵敏度高、重复性好, 可作为区分大米不同种属、产地和品质的有效方法^[107]。田福林等采用 GC - MS 对 4 种不同产地大米中的脂溶性成分进行分析, 并利用 NIST 标准质谱库和质谱图搜索程序进行检索。结果表明, 大米中主要的脂溶性成分为棕榈酸、亚油酸、油酸、角鲨烯和谷甾醇。不同产地大米中脂溶性化合物的指纹谱图存在显著差异, 并且建立了不同产地大米主成分分析和聚类分析的快速鉴定的方法^[108]。

有机组分指纹图谱技术在农产品产地溯源领域的发展受到越来越多的关注。该技术很好地解决了多种组分共同表征产品特征的问题。为建立稳定并且有效的产地溯源指纹图谱需要解决的关键问题有: (1) 指认能够表征农产品质量特征的特征峰, 考察特征峰与产地环境间的关系, 分析特征指标的影响因素; (2) 选择合适的相似度等参数建立“指纹”鉴别模型, 既要保证鉴别的准确率, 又需兼顾指纹图谱的稳定性。

1.3 相关化学计量学方法的基本原理及应用

按照国际化学计量学学会 (ICS) 的定义: 化学计量学是化学的一门分支科学, 它应用数学、统计学及计算机科学, 设计和选择最佳测定程序与实验方法, 并通过解析化学测量数据, 从而获得最大限度的化学信息。从实验测量数据中提取最大限度的化学和分析信息是化学计量学的主要任务之一^[109]。由于电子计算机技术的发展, 特别是专业软件的开发, 化学计量学正在展示十分广阔的发展前景^[110]。

现代仪器分析方法和化学计量学在数据分析上的应用是农产品溯源和鉴别技术的两大关键技术。不同产地农产品在稳定同位素含量、矿物元素分布、近红外光谱及有机组分含量等方面存在一定差异, 应用化学计量学方法分析不同产地农产品的“指纹”特征是有效

的产地溯源技术。常用的化学计量学方法有判别分析、主成分分析、多元线性分析、聚类分析、K 最邻近分析和偏最小二乘分析等。

1.3.1 方差分析

方差分析 (analysis of variance, ANOVA) 是由英国统计学家 R. A. Fisher 与 1923 年提出的, 是一种利用试验获取数据并进行分析的统计方法, 又称变异数分析^[111]。方差分析既可以作多组均数之间的显著性检验, 也可以作方差之间的显著性检验。该算法主要依据观测变量的方差, 来筛选对观测变量有显著影响的控制变量^[112]。

单因素方差分析用于分析某个控制变量在不同水平对观测变量产生的影响是否显著。由于其限于研究单个因素对观测变量的影响, 所以称为单因素方差分析。

单因素方差分析是在明确控制变量和观测变量的基础上, 计算观测变量的方差, 根据观测变量总离差平方和各部分所占的比例, 计算控制变量是否显著影响观测变量。具体表现可观测变量总离差平方和数据, 如果组间离差平方和所占的比例较大, 说明观测变量的变化主要受到控制变量影响, 也就是说控制变量给观测变量带来了显著影响, 因此可以由控制变量来解释; 相反, 如果组间离差平方和所占比例小, 则说明观测变量的变化并不是主要由控制变量引起, 也就是控制变量的变动不能用来解释观测变量, 控制变量的没有显著影响观测变量, 随机变量因素是引起观测变量值的变动的因素。通常, 方差分析采用 F 统计量作为检验统计量, 即 F 值检验。

多重比较检验可用于分析控制变量是否对观测变量造成显著影响的分析, 即利用全部观测变量值, 在各个水平下实现对观测变量总体均值的逐对比较。

协方差分析法将非人为控制因素作为协变量, 在去掉协变量对观测变量影响的情况下, 计算控制变量对观测变量的影响, 因此可以更加准确地对观测变量的控制因素进行分析^[113]。

协方差分析的基本思想与方差分析相同, 主要区别是在分析观测变量时, 将协变量的影响考虑进去, 人为观测变量的变动主要影响方面有: 控制变量的交互作用、控制变量的独立作用、随机因素的作用和协变量的作用。而且在扣除协变量的影响后, 再分析控制变量对其影响。计算中, F 统计量仍然作为检验统计量, 是各均方与随机因素引起的均方比。

在产地溯源方面, 方差分析多用于选择与产地环境密切相关的控制因素。郭波莉等人分析了不同产地牛肉中稳定性同位素比率与矿物元素含量, 并对检测结果进行了方差分析, 结果表明脱脂牛肉、粗脂肪、牛尾毛中碳氮同位素呈极显著相关性, 它们对牛肉产地的判别结果基本相同, 均可用于牛肉产地溯源研究^[114]。孙淑敏等人利用方差分析了不同产地羊组织器官中同位素含量, 结果表明羊组织器官中碳、氮、氢同位素在地域和饲喂期间均有显著性差异, 并且受地域的影响远大于饲喂期和饲喂期 $\times$ 地域交互作用的影响, 证实了碳、氮、氢同位素是羊肉产地溯源的有效指标^[115]。

1.3.2 相关性分析

相关性分析是指对两个或多个具备相关性的变量元素进行分析, 从而衡量两个变量因

素的相关密切程度或者其相互独立的距离。在这个广义的定义下,著名统计学家卡尔·皮尔逊设计了统计指标——相关系数。相关系数是用以反映变量之间相关关系密切程度的统计指标^[113]。

相关系数是按积差方法计算,同样以两变量与各自平均值的离差为基础,通过两个离差相乘来反映两变量之间相关程度;着重研究线性的单相关系数。依据相关现象之间的不同特征,其统计指标的名称有所不同。如将反映两变量间线性相关关系的统计指标称为相关系数(相关系数的平方称为判定系数);将反映两变量间曲线相关关系的统计指标称为非线性相关系数、非线性判定系数;将反映多元线性相关关系的统计指标称为复相关系数、复判定系数等。

通常,由样本数据计算得到的样本相关系数记作 r ,当 $|r| \geq 0.8$ 时,视为高度相关; $0.5 \leq |r| < 0.8$ 时,视为中度相关; $0.3 \leq |r| < 0.5$ 时,视为低度相关; $|r| < 0.3$ 时,视为不相关。

在土壤成分与作物品质关系的研究中,相关性分析被广泛的应用。谢忠雷博士分析了土壤及茶叶中铝含量的相关性,证实了用 CaCl_2 可提取铝与茶叶铝含量具有极显著的正相关关系,能很好地预测茶叶铝的含量^[116]。路遥等人证实,山东苹果叶片和果实中的矿质元素、可溶性糖和可滴定酸含量与土壤中矿质元素间的相关性都较显著^[117]。

1.3.3 主成分分析

主成分分析(principal component analysis, PCA)以一种最优化的方法浓缩及综合测量矩阵 X 中的信息,使数据简化,降低维数,寻找 n 个由原始变量线性组成的新变量,即主成分,以期揭示测量数据内部结构特征^[118]。

它主成分分析的计算过程主要依赖正交变换,将其分量相关的原随机向量转化成为其分量不相关的新随机向量,也就是为将原随机向量的协方差矩阵变换成对角矩阵。在几何上表现为将原坐标系转换为新的正交坐标系,使之能够指向样本点散布最开的 p 个正交方向,然后对多维变量体系进行降维处理,以使其以一个较高的精度转换成低维变量体系。也就是,主成分分析是研究如何以最少的信息丢失将众多原有变量浓缩成少数几个因子,如何使因子具有一定的命名解释性的多元统计分析方法。

通常主成分有以下几个特点:(1)主成分个数远远少于原有变量的个数,大大减少了计算工作量;(2)主成分能够反映原有变量的绝大部分信息;(3)主成分之间互不相关,能够有效地解决变量信息重叠、多重共线性等给分析应用带来的诸多问题;(4)主成分具有命名解释性。

主成分分析的第一步是将所有的指标数据进行标准化,标准化后,每个变量的平均值变成0,标准偏差为1。标准化的好处是可以消除不同指标间的量纲差异和数量级间的差异。

第二步求出指标间的相关矩阵,通过相关矩阵,可以确定具有高度相关性的指标,这些指标间的协方差可以通过另一个变量替代,即第一成分。去掉第一成分后,计算残留相关阵,通过残留相关阵,第二组高度相关的变量也可以发现,它们的协方差可以用第二成分替代,第二成分和第一成分为正交的。第二成分对原始数据的贡献去除后,可以提取第

三成分。此过程一直继续,直到原始数据的所有方差都被提取后结束。结果是原数据转化成了同样数量的互相正交的新变量。

每个样品的原始变量的标准化数据就被转换成新成分的线性组合值,如下式所示。

$$\begin{aligned} V_1 &= L_{1,1} C_1 + L_{1,2} C_2 + \cdots + L_{1,n} C_n \\ V_2 &= L_{2,1} C_1 + L_{2,2} C_2 + \cdots + L_{2,n} C_n \\ &\vdots \\ V_n &= L_{n,1} C_1 + L_{n,2} C_2 + \cdots + L_{n,n} C_n \end{aligned}$$

$V_1, V_2, \cdots, V_n$ 是原始数据的标准化值。 $L_{1,1}, L_{1,2}, \cdots, L_{n,n}$ 是原变量与新成分之间的相关程度的指标,一般将其称为因子荷载。一般而言,原数据的总方差总是高度集中在前几个成分中。因此,可以基于可以接受的最低方差贡献率,来选择主成分数。最终,可以用选择的几个主成分来重新计算样本信息。重新计算的值叫做主成分得分。

因为原始数据阵的方差通常集中在前几个主成分中,因此样品的一系列标准化因子得分可以在二维或三维坐标中画出,这样就能够根据样品的相似性来分类样品。另外,还可以根据因子荷载对这种分类做出某种解释。

在农产品的产地溯源领域,主成分分析被认为是有效的产地识别方法^[119~121]。占茉莉等人利用近红外光谱分析技术对茶样品进行主成分,结果表明西湖龙井茶有比较明显的主成分特征,区别于其他产地龙井茶,西湖龙井在主成分空间分布的离散度大于浙江各市县龙井的变异^[122]。陈蓉等人建立了芡实药材的液相指纹图谱,并进行主成分分析和聚类判别,结果表明主成分分析结合聚类判别所建立的 HPLC 指纹图谱可以表征芡实产地^[123]。

1.3.4 线性判别分析

线性判别分析(linear discrimination analysis, LDA)最早由 Fisher 提出^[124, 125],是一种比较成熟并在化学计量学中应用较广的模式识别方法,简称判别分析。McLachlan 对此方法以详细的叙述^[126]。判别分析的思路是根据已知类别食物的性质,利用某种技术建立函数式,然后对未知类别的新事物进行判断,并将之归入已知类别中。属于有监督的模式识别方法。判别的基本方法是把新个体归入与它性质最相近的类。在表达“性质最相近”时,有时候用距离远近衡量,有时候用损失的大小表示。不管用什么方法表达,都离不开判别函数。获得判别函数的过程就是根据样本对判别函数中的系数作出估计的过程。由于采用的估计方法不同,也就派生出不同的判别法,如距离判别、Fisher 判别、Bayes 判别等。

判别分析中指标较多时,一些不重要变量的引入,产生干扰而影响判别效果,甚至一些变量的引入,可能引起计算上的困难。因此,变量的选择是判别分析中重要的问题,逐步判别分析就是解决合理选择变量进行判别分析的一种方法。逐步判别的采用动态调节变量的方法,即每一步都通过检验把判别能力最强的一个变量引入判别函数,同时也考虑已经进入判别函数的变量是否因其他变量的引入而降低判别能力,及时剔除判别式。在最终的判别式中只保留数量判别能力较强的变量。

判别分析被广泛的用于农产品的产地鉴别中。成浩等人分析了3个产区扁形茶样本的多元化学指纹图谱,利用逐步判别技术对样本产地的判别正确率高于91.7%,表明采用