

稳定同位素结合粗脂肪、粗蛋白含量判别核桃的产地来源

王鹏飞, 郭康, 沈娟章, 谭卫红*

(中国林业科学研究院 林产化学工业研究所, 生物质化学利用国家工程实验室, 国家林业局林产化学工程重点开放性实验室, 江苏省生物质能源与材料重点实验室, 江苏 南京, 210042)

摘 要 为了判别核桃的产地来源, 利用稳定同位素质谱仪测定来自河南、新疆、河北、甘肃、陕西、四川、湖北、云南、广西等省的 344 个核桃样品的 C、H、O、N 同位素比值, 用元素分析仪测定 N 元素含量并转化为粗蛋白含量, 用理化分析方法测定粗脂肪含量。结果表明, 核桃中的 $\delta^2\text{H}$ 、 $\delta^{18}\text{O}$ 值随纬度的降低而减小; 河南省亚地区核桃的 $\delta^{13}\text{C}$ 值随海拔的增加而增加。利用线性判别发现, C、H、O、N 同位素比值对不同省份、河南省亚地区核桃产地的正确判别率为 71.1% 和 57.9%; 结合粗脂肪、粗蛋白含量后, 正确判别率总体分别提升至 79.6% 和 68.6%。说明稳定同位素结合有机成分能提高核桃产地的判别效果, 且不同省份间的判别率明显高于亚地区的判别率。

关键词 核桃; 稳定同位素; 粗脂肪; 粗蛋白; 产地判别

我国是核桃的生产大国, 主要产区有新疆、云南、广西、河北、湖北、陕西、安徽等省。核桃营养价值极高, 富含优质的脂肪、蛋白质、维生素以及微量元素, 具有健脑益智、降血脂、抗氧化、降血糖、预防癌症等功能^[1]。核桃的品质受到产地的影响, 具有很强的地域特征。有学者研究表明, 不同产区的核桃受土壤、气候、湿度等环境因素影响, 使得核桃的营养成分不同^[2]。因此有必要保护地域特色食品, 我国颁布的《地理标志产品保护规定》明确规定特定地域, 具有质量、声誉的产品受法律保护, 目前也有相关的核桃地理标志, 但是如何鉴别确认不同产地的核桃是当前需要解决的问题。

近年来, 稳定同位素技术发展快速, 该技术利用生物体内同位素组成受气候、土壤、地形以及自身代谢等因素影响的特征^[3], 在农产品产地溯源和掺假检测等许多领域逐渐得到应用, 目前已经成功应用于茶叶^[4]、黑加仑^[5]、橄榄油^[6]、甜椒^[7]等产品的产地溯源。有时为了提高产地溯源的判别率, 可通过将稳定同位素结合产品的其他检测指标, 如有机成分^[8], 无机元素^[9-10], 有机、无机元素相结合^[11]等。虎海防等^[12]利用核桃中碳水化合物含量的差异对新疆不同产地的核桃进行鉴别, 而利用稳定同位素技术和有机成分联合判别核桃产地来源, 目前还未见报道。实验的创新点在于将稳定同位素技术应用于核桃产地

溯源中, 主要内容是研究核桃的碳、氢、氧、氮同位素组成以及粗脂肪、粗蛋白含量在不同地区的差异, 并利用粗脂肪、粗蛋白含量辅助稳定同位素指标对不同产地的核桃进行判别分析。

1 材料与方法

1.1 主要仪器与材料

元素分析-稳定同位素质谱联用仪(美国 Thermo Fisher 公司); FLASH 2000 HT 型元素分析仪; 连续流接口装置 Conflo IV; DELTA V ADVANTAGE 稳定同位素质谱仪; DHG-9146A 型电热恒温鼓风干燥箱。

碳、氮同位素标准物质咖啡因 (IAEA-600, $\delta^{13}\text{C}$: $-27.771\text{‰} \pm 0.043\text{‰}$, $\delta^{15}\text{N}$: $+1.000\text{‰} \pm 0.2\text{‰}$); 氢同位素标准物质聚乙烯 (IAEA-CH-7, $\delta^2\text{H}$: $-100.3\text{‰} \pm 2.2\text{‰}$); 氧同位素标准物质苯甲酸 (IAEA-601, $\delta^{18}\text{O}$: $+23.330\text{‰} \pm 0.3\text{‰}$), 均购于奥地利维也纳国际原子能机构。

实验涉及到气体均为高纯气体, 购于南京麦克斯韦气体有限公司。

实验收集 344 个核桃样品, 其中河南省 121 个, 甘肃 80 个, 云南省 23 个, 四川省 20 个, 陕西省 20 个, 新疆 20 个, 湖北 20 个, 河北 20 个, 广西 20 个, 样品的具体地域信息见表 1。

1.2 样品预处理

核桃去壳, 核桃仁用研钵磨碎, 置于 60 °C 烘箱干燥 24 h 除去水分, 于 0 °C 密封储存待测。

第一作者: 硕士研究生 (谭卫红研究员为通讯作者, E-mail: tanweihong71@163.com)。

收稿日期: 2018-03-29, 改回日期: 2018-05-11

1.3 样品测定

1.3.1 粗脂肪含量

参照 GB/T. 5009. 6—2016《食品安全国家标准 食品中脂肪的测定》,采用索式提取法测定。

表 1 核桃采样地域信息

Table 1 Walnut sampling area information

省份	市/县(样本数)	平均海拔/m	经度/E	纬度/N
河南	济源市(30)	146	112°36'	35°04'
	内乡县(19)	161	111°50'	33°02'
	林州市(25)	295	113°49'	36°04'
	嵩县(22)	327	112°05'	34°08'
	卢氏县(25)	571	111°02'	34°03'
甘肃	徽县(20)	928	106°05'	33°46'
	成县(20)	966	105°44'	33°45'
	康县(20)	1 246	105°36'	33°19'
	清水县(20)	1 376	106°08'	34°44'
陕西	商洛市(14)	725	109°56'	33°52'
	陇县(6)	902	106°51'	34°53'
云南	云县(5)	1 069	100°07'	24°26'
	凤庆县(6)	1 567	99°55'	24°34'
	永平县(6)	1 667	99°32'	25°27'
	大姚县(6)	1 861	101°19'	25°43'
四川	南江县(20)	555	106°49'	32°20'
湖北	神农架林区(20)	887	110°40'	31°44'
河北	石家庄市(20)	82	114°30'	38°02'
广西	百色市(20)	138	106°37'	23°54'
新疆	阿克苏(20)	1 107	80°15'	41°10'

1.3.2 粗蛋白含量

用 EA2400 Series II 元素分析仪测定氮元素含量,粗蛋白含量为氮元素含量乘以 6.25^[13]。

1.3.3 稳定碳、氮同位素测定

称取 0.25 ~ 0.3 mg 待测样品,用锡杯包裹,由元素分析仪自动进样器将样品送入动态快速燃烧炉。在装有纯氧、氧化还原剂的燃烧炉中,样品的中的碳元素转化为 CO₂,氮元素转化为 N₂。经过吸水柱除水干燥,然后经过 CO₂、N₂ 分离色谱柱分离,最后经 Conflo IV 稀释后进入同位素比率质谱仪测试。

表 2 不同省份间核桃各组分的测定结果

Table 2 Determination of different components of walnut in different provinces

省份	$\delta^{13}\text{C}/\text{‰}$	$\delta^2\text{H}/\text{‰}$	$\delta^{18}\text{O}/\text{‰}$	$\delta^{15}\text{N}/\text{‰}$	粗脂肪/%	粗蛋白/%
河南	-25.907 ± 0.945 ^a	-178.006 ± 5.281 ^b	22.445 ± 1.103 ^b	-2.735 ± 1.443 ^d	69.54 ± 4.00 ^b	22.40 ± 3.20 ^{ab}
甘肃	-26.329 ± 0.934 ^{ab}	-177.527 ± 5.074 ^b	21.281 ± 1.375 ^c	-0.124 ± 2.736 ^c	69.72 ± 3.71 ^b	19.40 ± 4.77 ^b
陕西	-25.718 ± 0.862 ^a	-177.243 ± 4.029 ^b	21.662 ± 1.811 ^{bc}	2.745 ± 1.635 ^{ab}	71.94 ± 4.16 ^{ab}	21.66 ± 4.55 ^{ab}
云南	-26.814 ± 0.951 ^b	-214.377 ± 4.260 ^f	14.760 ± 0.815 ^e	2.924 ± 2.284 ^{ab}	73.75 ± 6.54 ^a	19.64 ± 3.53 ^b
四川	-26.248 ± 0.664 ^{ab}	-184.181 ± 4.092 ^c	18.919 ± 1.061 ^d	0.558 ± 1.123 ^{bc}	70.63 ± 2.86 ^{ab}	20.27 ± 2.74 ^b
新疆	-27.332 ± 1.371 ^b	-167.087 ± 4.737 ^a	25.107 ± 1.185 ^a	2.008 ± 1.251 ^b	68.30 ± 3.70 ^b	23.72 ± 3.41 ^a
河北	-27.083 ± 1.241 ^b	-162.501 ± 7.230 ^a	24.708 ± 2.084 ^a	1.229 ± 1.122 ^b	66.77 ± 3.01 ^b	20.97 ± 2.86 ^{ab}
湖北	-27.474 ± 1.498 ^b	-202.027 ± 7.225 ^d	15.716 ± 1.302 ^e	4.115 ± 1.689 ^a	69.90 ± 2.87 ^b	21.41 ± 3.21 ^{ab}
广西	-26.034 ± 1.159 ^{ab}	-207.847 ± 7.858 ^e	13.574 ± 0.857 ^f	3.674 ± 2.170 ^{ab}	60.75 ± 5.69 ^c	21.61 ± 4.40 ^{ab}

注:数据为平均值 ± 标准偏差;不同小写字母表示显著性差异($P < 0.05$)。下同。

检测条件:氧化炉温度为 960 ℃,载气流速为 100 mL/min,样品吹扫气流速为 225 mL/min,氧气流速为 175 mL/min,注氧时间为 3 s,气相色谱柱温度为 50 ℃。

1.3.4 稳定氢、氧同位素测定

称取约 0.25 ~ 0.3 mg 待测样品,用银杯包裹好置于元素分析仪自动进样器中,样品送入高温裂解炉,裂解炉中的玻璃碳直接将样品中 H 和 O 元素转化成 H₂ 和 CO,经过 H₂、CO 分离色谱柱分离后,最后经过 Conflo IV 稀释后进入质谱系统。

检测条件:裂解炉温度为 1 400 ℃,载气流速为 100 mL/min,样品吹扫气流速 150 mL/min,气相色谱柱温度为 90 ℃。

1.3.5 数据处理

使用 Isodat 3.0 软件对稳定同位素比值进行计算,用统计产品与服务解决方案 SPSS20.0 软件对数据进行方差分析,单因素显著性差异分析并作图,利用线性判别分析各产地的判别率。线性判别分析是常用的判别方法,其原理是根据样本的类内方差最小和类间方差最大的原则,构建 2 个判别函数,利用这 2 个判别函数对样本进行分类。

2 结果与讨论

2.1 地域差异分析

2.1.1 碳同位素

由表 2 可知,不同地区核桃中 $\delta^{13}\text{C}$ 值在 -27.474‰ ~ -25.718‰,样品的变化幅度较小, $\delta^{13}\text{C}$ 值由小到大的顺序为湖北 < 新疆 < 河北 < 云南 < 甘肃 < 四川 < 广西 < 河南 < 陕西。从图 1-a 发现,新疆、河北、湖北、云南 4 省的样品与河南、甘肃、陕西、四川的样品重叠部分较少,区分明显;而广西样品 $\delta^{13}\text{C}$ 值波动范围最大,与其余各地都存在重叠,较难区分。

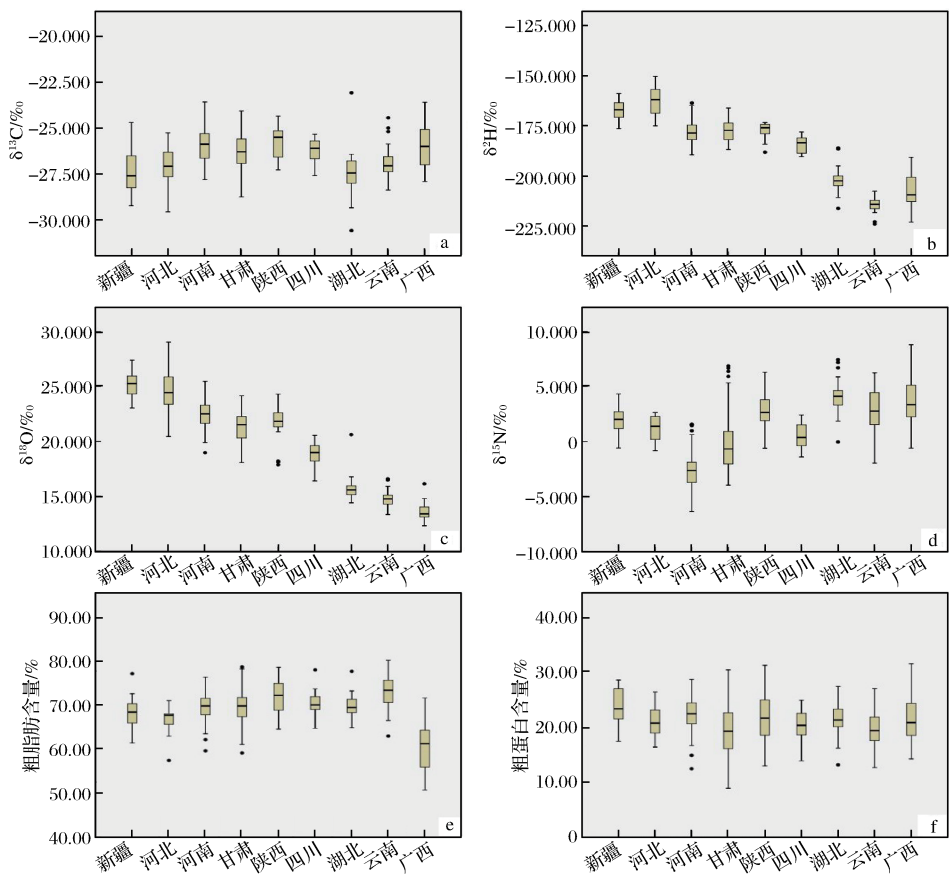


图1 不同地区核桃稳定同位素及有机成分箱图

Fig. 1 Different regions of walnut stable isotopes and organic composition box map

在河南省的亚地区中发现,δ¹³C 值的变化顺序为济源市<内乡县<林州市<嵩县<卢氏县,结合样品采样地域信息表 3 发现,δ¹³C 值随海拔高度的增加而增加,这与周咏春等^[14]的研究结果一致。可能是因为随着海拔的增高,大气压降低,导致植物叶片内外

CO₂ 的分压降低,碳同位素的分馏作用减小,从而造成这一变化趋势^[15]。但这一变化趋势在各省之间没有体现出来,因为除了海拔,碳同位素还受到温度、光照、土壤含水量^[16-18]等影响。

表 3 河南省亚地区核桃各组分含量

Table 3 The content of walnut in sub-region of Henan province

省份	亚地区	δ ¹³ C/‰	δ ² H/‰	δ ¹⁸ O/‰	δ ¹⁵ N/‰	粗脂肪/%	粗蛋白/%
河南	济源市	-26.720±0.639 ^b	-178.728±4.323 ^b	22.598±0.845 ^a	-3.072±0.639 ^b	68.41±2.56 ^a	24.25±2.51 ^{ab}
	内乡县	-26.299±0.677 ^b	-180.408±4.073 ^b	21.526±1.105 ^b	-3.754±1.667 ^b	69.54±4.00 ^a	22.40±3.20 ^{ab}
	林州市	-26.238±0.623 ^b	-181.539±3.601 ^b	22.532±1.123 ^a	-2.163±0.650 ^{ab}	70.52±1.75 ^a	21.82±1.75 ^b
	嵩县	-25.073±0.673 ^a	-173.783±6.188 ^a	22.970±0.781 ^a	-3.113±1.067 ^b	70.87±2.83 ^a	21.89±4.31 ^{ab}
	卢氏县	-25.058±0.065 ^a	-175.496±4.099 ^{ab}	22.383±1.158 ^a	-1.796±1.870 ^a	69.86±6.85 ^a	21.58±3.38 ^b

2.1.2 氢同位素

各地区 δ²H 值的范围在 -214.377‰ ~ -162.501‰,其中以河北样品最高,云南样品最低。从图 1-b 中看出各省的 δ²H 值分布为 3 个梯度,新疆与河北样品有较大的重叠,两者之间难以区分,但与其他地区区别显著。河南、甘肃、陕西样品的 δ²H 均值都在 -177‰ 附近,重叠最大,无显著性差异 (P >

0.05)。四川、湖北、甘肃样品的 δ²H 值逐渐减小且少有重叠,三者之间容易区分。广西省样品的 δ²H 值波动范围较大,除与云南、湖北样品有少许重叠外,与其他各省的区别明显。由图 1-b 能够看出核桃中的 δ²H 值大体上有着随纬度的降低而减小的趋势,这与马奕颜等^[19]的报道一致。而在河南省的亚地区发现,随着纬度的降低,δ²H 值呈现出先减小后增大的

趋势。氢同位素的分馏并不仅受到纬度的影响,同时也与温度^[20]、降水^[21]、海拔^[22]等因素影响有关。结合表1和图1-b发现新疆阿克苏的纬度高于河北,但是新疆的样品的 $\delta^2\text{H}$ 值却低于河北样品,同样的情况还出现在广西和云南之间。研究表明在水汽输送过程中,由于重同位素先于轻同位素下降, $\delta^2\text{H}$ 值由海岸向内陆方向呈递减的趋势,即大陆效应^[23]。新疆相对河北在遥远的内陆,有可能此时的大陆效应强于纬度效应,导致新疆样品的 $\delta^2\text{H}$ 值小于河北样品。此外,植物中的 $\delta^2\text{H}$ 值随海拔的升高而降低^[19],云南省核桃产区的平均海拔约为1 541 m,远大于广西省的138 m,因此有可能 $\delta^2\text{H}$ 值受到海拔的影响较为显著,导致云南省样品的 $\delta^2\text{H}$ 值小于广西省。

2.1.3 氧同位素

$\delta^{18}\text{O}$ 值的范围在13.574‰~25.107‰,以广西核桃最低,新疆核桃最高。河北样品的 $\delta^2\text{H}$ 值波动最大,与新疆样品的重叠最多,两者之间无显著性差异($P>0.05$)难以区分,但是两者与其余各省的样品区别明显。此外,陕西样品与河南、甘肃样品也有较多的重叠。根据表1和图1-c发现,不同产地核桃的 $\delta^{18}\text{O}$ 值随纬度的减小而减小,其趋势与 $\delta^2\text{H}$ 值变化相似。这也符合由于氢和氧都是水的组成元素,在水循环过程中两者具有相似的分馏作用这一观点^[23]。但是在河南省的亚地区发现 $\delta^{18}\text{O}$ 值随纬度的减小,呈现出先增大后减小的趋势,这与亚地区氢同位素的变化趋势相反,还需深入研究。

2.1.4 氮同位素

由图1-d知,不同来源的核桃 $\delta^{15}\text{N}$ 值变化幅度较大,在-2.735‰~4.115‰,依次排序为河南<甘肃<四川<河北<新疆<陕西<云南<广西<湖北。河南样品的 $\delta^{15}\text{N}$ 值最低,且与其他各省的样品都没有重叠。四川与甘肃之间重叠较多,不易区分,但两者与其余各地的差异较为明显。氮元素的分布与碳、氢、氧同位素的分布差异较大。这是因为植物中的 $\delta^{15}\text{N}$ 值主要受到土壤中氮元素的影响,而土壤中的氮则取决于气候、地理条件以及农业施肥^[24]。土壤中 $\delta^{15}\text{N}$ 值与土壤的湿度相关,湿度大的区域 $\delta^{15}\text{N}$ 值小,干旱的地区 $\delta^{15}\text{N}$ 值较高^[25]。农业施肥受到人为因素的影响较大,化学肥料的 $\delta^{15}\text{N}$ 值在-2‰~2‰,而有机肥料的 $\delta^{15}\text{N}$ 值在0.6‰~36.7‰,过多的使用化学肥料也会导致土壤中 $\delta^{15}\text{N}$ 值贫化^[26]。

2.1.5 有机成分

由图1-e、1-f可知不同产地的核桃粗脂肪含量多

数集中在70%附近,其中云南省样品的粗脂肪含量最高,平均含量为 $(73.75 \pm 6.54)\%$,广西省样品的粗脂肪含量最低,平均含量为 $(60.75 \pm 5.69)\%$,广西省与其他各省没有重叠差异。单因素方差分析显示,除广西省外,其余各省之间无显著性差异($P>0.05$)。不同地区核桃的粗蛋白含量集中在21%附近,河南省样品中的粗蛋白含量最高,平均含量为 $(22.40 \pm 3.20)\%$,甘肃省样品的粗蛋白含量最低,平均含量为 $(19.40 \pm 4.77)\%$,各省之间也无显著性差异($P>0.05$)。

2.2 判别分析

2.2.1 对不同省份核桃的判别分析

利用线性判别分析法分析各指标对核桃产地的判别影响,结果如图2所示。利用 $\delta^{13}\text{C}$ 、 $\delta^2\text{H}$ 、 $\delta^{18}\text{O}$ 、 $\delta^{15}\text{N}$ 值对核桃产地进行判别时,对河南省样品的正确判别率最高,为87.6%,甘肃省最低,只有41.3%。其他省份的正确判别率依次为新疆70.0%,河北60.0%,陕西80.0%,四川85.0%,湖北78.9%,云南73.9%,广西70.0%,总体正确判别率为71.1%。

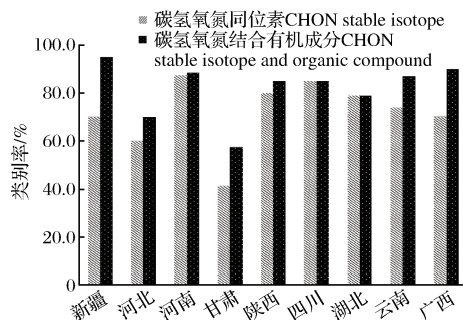


图2 不同省份间核桃产地判别结果

Fig.2 Discrimination results of walnut origin in different provinces

将核桃的 $\delta^{13}\text{C}$ 、 $\delta^2\text{H}$ 、 $\delta^{18}\text{O}$ 、 $\delta^{15}\text{N}$ 值与粗脂肪、粗蛋白结合判别分析,可以看到各产地有两个省的正确判别率达到了90.0%以上,分别为新疆95.0%,广西90.0%。其余各省的正确判别率也有不同幅度的提升,河北70.0%,河南88.4%,陕西85.0%,四川85.0%,湖北78.9%,云南87.0%,甘肃省样品的判别率仍然最低,但也提升到57.5%。总体的正确判别率提升到了79.6%,说明稳定同位素结合有机成分能提高对核桃产地的判别效果。

2.2.2 对河南省亚地区核桃的判别分析

如图3,在利用 $\delta^{13}\text{C}$ 、 $\delta^2\text{H}$ 、 $\delta^{18}\text{O}$ 、 $\delta^{15}\text{N}$ 值对河南省亚地区核桃产地判别时,发现亚地区的正确判别没有省份之间的高。在河南省的亚地区中,嵩县样品的正

确判别率最高,也才达到 68.2%,其余各亚地区的判别率为卢氏县 56.0%,林州市 48.0%,济源市 60.0%,内乡县 57.9%,总体的正确判别率为 57.9%。在结合了有机成分判别后,5 个地区的总体正确判别率提高至 68.6%,其中林州市提升最多,达到 72.0%,其余各地的正确判别率为:嵩县 77.3%,卢氏县 60.0%,济源市 66.7%,内乡县 68.4%。可见,相比于各省之间,河南省亚地区的判别率要低,可能是由于各地区之间距离较近,同位素与有机成分的差异不明显所致。

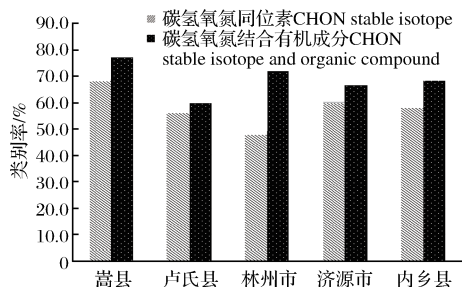


图3 河南省亚地区核桃产地判别结果

Fig. 3 Discrimination results of walnut origin in sub-region of Henan Province

3 结论

不同地区核桃的碳、氢、氧、氮同位素具有明显的地域特征,在结合核桃的粗脂肪、粗蛋白含量后,能显著提高各地区的正确判别率,说明稳定同位素结合有机成分这一方法能够较为有效地用于核桃产地的区分。

参 考 文 献

- [1] 孙树杰,王兆华,宋康,等. 核桃营养价值及功能活性研究进展[J]. 中国食物与营养, 2013, 19(5):72-74.
- [2] 于沛沛,于萌萌,姜启兴,等. 不同产地核桃仁的成分分析及营养评价[J]. 安徽农业科学, 2015, 43(18):296-299.
- [3] 吴绍洪,潘韬,戴尔阜. 植物稳定同位素研究进展与展望[J]. 地理科学进展, 2006, 25(3):1-11.
- [4] 王洁,石元值,张群峰,等. 基于稳定同位素比率差异的西湖龙井茶产地溯源分析[J]. 同位素, 2016, 29(3):129-139.
- [5] 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.
- [6] PORTARENA S, BALDACCHINI C, BRUGNOLI E. Geographical discrimination of extra-virgin olive oils from the Italian coasts by combining stable isotope data and carotenoid content within a multivariate analysis [J]. Food Chemistry, 2017, 215(1):1-6.
- [7] RIJKE E D, SCHOORL J, CERL C I, et al. The use of $\delta^2\text{H}$ and $\delta^{18}\text{O}$ isotopic analyses combined with chemometrics as a traceability tool for the geographical origin of bell peppers[J]. Food Chemistry, 2016, 204(2):122-128.
- [8] GUYONF, AUBERGER P, GAILLARD L, et al. $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ isotope ratios of organic acids, glucose and fructose determined by HPLC-CO-IRMS for lemon juices authenticity [J]. Food Chemistry, 2014, 146(1):36-40.
- [9] CAMIN F, LARCHER R, NICOLINI G, et al. Isotopic and elemental data for tracing the origin of European olive oils [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2009, 58(1):570-577.
- [10] 胡桂仙,邵圣枝,张永志,等. 杨梅中稳定同位素和多元素特征在其产地溯源中的应用[J]. 核农学报, 2017, 31(12):2450-2459.
- [11] MAGGI L, CAPUONAU, 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(1):543-548.
- [12] 虎海防,陶秀冬,孙雅丽,等. 新疆核桃营养成分产地指纹特征及判别分析[J]. 新疆农业科学, 2014, 51(10):1792-1796.
- [13] RAZMKHAH S, RAZAVI S, MOHAMMADIFAR M, et al. Stepwise extraction of lepidium sativum seed gum: physicochemical characterization and functional properties [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2016, 88(9):553-564.
- [14] 周咏春,樊江文,钟华平,等. 青藏高原草地群落植物碳同位素组成与海拔梯度的关系[J]. 中国科学:地球科学, 2013, 43(1):120-130.
- [15] 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.
- [16] FRANCEY R, FARQUHAR G. An explanation of $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ variations in tree rings[J]. Nature, 1982, 279(12):28-31.
- [17] 王国安,韩家懋,周力平. 中国北方 C_3 植物碳同位素组成与年均温度关系[J]. 中国地质, 2002, 29(1):55-57.
- [18] YE Nengshang, ZHANG Liqinn, GU Xuexin. Discrimination of green teas from different geographical origins by using HS-SPME/GC-MS and pattern recognition methods [J]. Food Analytical Methods, 2012, 5(4):856-860.

- [19] 马奕颜,郭波莉,魏益民,等. 稳定同位素-有机成分结合判别猕猴桃的产地来源[J]. 中国食品学报, 2015, 15(8): 238-244.
- [20] 罗伦,余武生,万诗敏,等. 植物叶片水稳定同位素研究进展[J]. 生态学报, 2013, 33(4): 1 031-1 041.
- [21] BONTEMPO L, CAMIN F, LARCHER R, et al. Coast and year effect on H, O and C stable isotope ratios of Tyrrhenian and Adriatic italian olive oils[J]. Rapid Commun Mass Sp, 2009, 23(7): 1 043-1 048.
- [22] 杨国华,刘福旭. 稳定同位素[M]. 北京:原子能出版社, 1988.
- [23] 林光辉. 稳定同位素生态学[M]. 北京:高等教育出版社, 2013.
- [24] KORNEXL B E, WERNER T, ROSSMANN A, et al. Measurement of stable isotope abundances in milk and milk ingredients-a possible tool for origin assignment and quality control [J]. Zeitschrift für Lebensmitteluntersuchung und -Forschung A, 1997, 205(1): 19-24.
- [25] ARANIBAR J N, OTTER L, MACKO S A, et al. Nitrogen cycling in the soil-plant system along a precipitation gradient in the Kalahari sands[J]. Global Change Biology, 2004, 10(6): 359-373.
- [26] 袁玉伟,张志恒,杨桂玲,等. 氮稳定同位素的印迹规律与有机食品鉴别[J]. 核农学报, 2009, 23(4): 659-663.

Characterise the geographical origin of walnut using stable isotopes in combination with crude fat and protein content

WANG Pengfei, GUO Kang, SHEN Juanzhang, TAN Weihong*

(Institute of Chemical Industry of Forest Products, CAF; National Engineering Lab. for Biomass Chemical Utilization;
Key and Open Lab. of Forest Chemical Engineering, SFA; Key Lab. of Biomass Energy and
Material, Jiangsu province, Nanjing 210042, China)

ABSTRACT In order to distinguish walnuts according to their geographic origin, 344 samples of walnuts from Henan, Xinjiang, Hebei, Gansu, Shanxi, Sichuan, Hubei, Yunnan and Guangxi were collected. Their isotope ratios of C, H, O, N were determined by isotope ratio mass spectrometry. The N content was measured by elemental analyzer and it was utilized to calculate the corresponding crude protein content. The crude fat content was determined by physicochemical analytical method. The results showed that $\delta^2\text{H}$ and $\delta^{18}\text{O}$ were reduced with decreased latitude. The $\delta^{13}\text{C}$ value of walnuts in Henan sub-region increased with elevated latitude. The linear discriminant analysis found that the overall rates of correctly discriminating walnuts from different provinces and Henan sub-region by the stable isotope ratio of C、H、O、N were 71.1% and 57.9%, respectively. When combined with the contents of crude fat and protein, the overall rates of correct discrimination increased up to 79.6% and 68.6%, respectively. It was found that stable isotopes in combination with organic component analysis could help discriminating the origins of walnuts. In addition, the discrimination rates for discriminating walnuts from different provinces are higher than those for sub-regions.

Key words walnut; stable isotope; crude fat; crude protein; origin discrimination