

同位素比值分析应用于 3 种茶叶的产地鉴别

Regional discrimination of three kinds of tea by Isotope ratio analysis

张建辉¹ 汪霞丽¹ 胡勇辉¹ 方宣启¹

ZHANG Jian-hui¹ WANG Xia-li¹ HU Yong-hui¹ FANG Xuan-qi¹

戴璇¹ 张丽¹ 刘岚松²

DAI Xuan¹ ZHANG Li¹ LIU Lan-song²

(1. 湖南省食品质量监督检验研究院, 湖南 长沙 410111; 2. 湖南省食品安全审评认证中心, 湖南 长沙 410013)
(1. Hunan Institute of Food Quality Supervision Inspection and Research, Changsha, Hunan 410111, China;
2. Review of Food Safety Certification Center in Hunan Province, Changsha, Hunan 410013, China)

摘要:测定不同产地茶叶样品中 5 种重金属元素同位素比值, 并采用 SAS(statistical analysis system)统计软件对同位素比值进行方差分析、聚类分析和判别分析。结果表明:²⁰⁶Pb/²⁰⁷Pb、⁶⁶Zn/⁶⁷Zn、⁶⁸Zn/⁶⁷Zn、¹¹⁴Cd/¹¹⁰Cd、¹¹²Cd/¹¹⁰Cd、²⁶Mg/²⁵Mg 6 个指标在 3 个产地中存在显著性差异(99%显著水平), 聚类分析结果显示古丈、石门和安化 3 个产地样品聚类正确率分别为 78.26%, 94.44%, 92.10%; 判别分析结果显示 3 个产地样品的判别正确率分别为 86.96%, 94.44%, 97.37%, 且两种鉴别方法错判样品个体较为一致。因此采用同位素比值的差异性结合 SAS 软件的聚类分析和判别分析, 均能较好地对茶叶产地进行鉴别。

关键词:茶叶; 同位素; 产地鉴别

Abstract: The isotope ratio of five kinds of heavy metal elements in tea samples from different areas was measured, and the variance, cluster and discriminant analyses were undertaken using SAS (statistical analysis system) software. The results showed that ²⁰⁶Pb/²⁰⁷Pb, ⁶⁶Zn/⁶⁷Zn, ⁶⁸Zn/⁶⁷Zn, ¹¹⁴Cd/¹¹⁰Cd, ¹¹²Cd/¹¹⁰Cd, ²⁶Mg/²⁵Mg 6 indexes existed significant differences in the three regions (99% significant level). The cluster analysis results of the six indexes showed that the clustering accuracy of samples from three regions as Guzhang (78.26%), Shimen (94.44%) and Anhua (92.10%). The discriminant analysis results showed that the discriminant accuracy of samples from three regions, they were 86.96%, 94.44% and 97.37% respectively. Moreover, these two methods of identification are consistent with each other. Therefore, the otherness of isotope ratio combined with the

cluster and discriminant analyses of SAS software could be used to identify the tea producing areas.

Keywords: tea; isotope; regional discrimination

茶叶在中国有坚实的消费基础, 已成为中国优秀文化的重要载体之一^[1-2]。每种茶叶都具有一定的地域特色和品质特征, 随着茶叶产业的不断发展, 市场以次充好、以假冒真现象也日趋严重, 困扰着茶叶产业的升级与发展^[3]。因此, 研究茶叶产地间的差异性, 开发茶叶产地真实性鉴别技术, 对于原产地保护, 引导合理消费, 加强食品安全检测和食品安全监管等方面, 具有重要的理论研究和实际应用价值。

目前, 茶叶的产地鉴别主要靠业内人士的经验, 通过茶叶感官如外形、茶香、茶汤颜色、口感等进行鉴别, 没有系统有效的评价方法, 普通消费者很难识别。此外, 还有部分产品采用了防伪标签, 然而, 这些办法似乎仍然无法从根本上解决产地鉴别难题。同位素指纹用于食品产地溯源已有报道^[4-6], 主要利用不同产地环境中的同位素比值存在差异, 在作物栽培和动物饲养过程中, 同位素元素发生转移, 造成产品中这些元素同位素比值也不同, 同时结合化学计量学, 进行原产地验证和鉴别。本试验以湖南省的 3 个产茶大县(安化、石门、古丈)为研究对象, 分析不同产地茶叶中锂、镁、锌、镉、铅 5 种同位素比值的分布差异性, 并利用 SAS 软件进行方差分析、聚类分析和判别分析, 以期建立茶叶产地鉴别的可行性方法, 为茶叶产地保护工作提供技术支撑。

1 材料与方法

1.1 样品采集与处理

在湖南安化、石门和古丈的茶叶种植基地或生产企业采集新鲜茶叶或茶叶成品共 97 份, 确保所采集的茶叶为原产地样品, 3 个产地的样品采集量分别为 38, 36, 23 份, 新鲜茶

基金项目:湖南省食药监局食品药品安全科技项目(编号:湘食药科 R201607)
作者简介:张建辉, 男, 湖南省食品质量监督检验研究院高级工程师, 硕士。
通信作者:刘岚松(1964—), 男, 湖南省食品安全审评认证中心研究员级高级工程师, 硕士。E-mail: liuls55@qq.com
收稿日期:2017-07-25

叶经烘箱 100 ℃干燥后用高速粉碎机粉碎并室温保存,成品茶叶直接粉碎后室温保存。

1.2 仪器与试剂

电感耦合等离子体质谱仪:iCAPQ 型,美国 Thermo Fisher Scientific 公司;

微波消解仪:MARS 6 型,美国 CEM 公司;

锂(GBW04432)、锌(GBW04464)、铜(GBW04463)、镉(GBW04441)、铅(GBW04442)同位素丰度比标准物质:国家标准物质研究中心;

硝酸:优级纯,美国 Thermo Fisher Scientific 公司;

试验所用的水均为超纯水。

1.3 方法

1.3.1 样品前处理 参照 GB 5009.268—2016,称取经粉碎后的样品 0.5 g(精确到 0.001 g)于高压消解罐中,加入 5.0 mL 硝酸,放置过夜,消解前加入双氧水 2 mL,按照微波消解仪的标准操作步骤并采用逐步升温模式进行消解(第一步:10 min 由常温升至 120 ℃并保持 4 min;第二步:6 min 由 120 ℃升温至 150 ℃并保持 10 min;第三步:8 min 由 150 ℃再升温至 190 ℃并保持 50 min),消解完成并冷却后,拿出内罐,开盖置于专用赶酸器中进行赶酸处理,超纯水定容至 25.0 mL 后待测。

1.3.2 同位素比值的测定 按照仪器操作规程,设置好仪器

参数后(见 1.3.3),对 ICP-MS 进行调谐,建立测定方法,仪器稳定约 30 min 后,测定锂(⁶Li、⁷Li)、镁(²⁴Mg、²⁵Mg、²⁶Mg)、铜(⁶³Cu、⁶⁵Cu)、锌(⁶⁴Zn、⁶⁶Zn、⁶⁷Zn、⁶⁸Zn、⁷⁰Zn)、镉(¹¹⁰Cd、¹¹¹Cd、¹¹²Cd、¹¹⁴Cd)、铅(²⁰⁴Pb、²⁰⁶Pb、²⁰⁷Pb、²⁰⁸Pb)同位素离子计数。同时作试剂空白,并用同位素丰度标准物质作为质量控制样品,确保比值测定结果准确可靠。

1.3.3 ICP-MS 参数设置 射频功率:1 550 W;雾化器类型:普通型;雾化室温度:2.70 ℃;等离子体气流量:14 L/min;辅助气流量:0.80 L/min;载气流量:1.085 0 L/min;测定模式:He 碰撞模式(KED 模式);测定点数:50 点;重复次数:3 次。

1.4 数据处理与分析

根据测得的各同位素离子计数结果,计算相应的同位素比值,所得数据采用 SAS 9.4 for Windows 统计分析软件进行方差分析、聚类分析和判别分析。

2 结果与分析

2.1 同位素比值测定结果及方差分析

按照 1.3 的方法测定并计算同位素比值,参考同位素丰度标准溶液中相应同位素的丰度比值,结果发现,由于⁴⁰Ar²³Na 的干扰较大,导致⁶³Cu 结果偏高,影响⁶³Cu/⁶⁵Cu 比值结果的准确性,故在后面的分析中不予考虑,其他可接受的结果及单因素方差分析结果见表 1。

表 1 茶叶中同位素比值测定结果及方差分析[†]

Table 1 Determination and variance analysis of isotope ratio in tea

同位素比值	安化(<i>n</i> =38)	古丈(<i>n</i> =23)	石门(<i>n</i> =36)	<i>F</i> 值
⁶ Li/ ⁷ Li	0.073 0±0.004 1	0.071 9±0.003 6	0.071 5±0.001 7	2.18
²⁶ Mg/ ²⁵ Mg	1.164 6±0.014 0	1.166 5±0.004 3	1.175 6±0.004 0	14.13
⁶⁶ Zn/ ⁶⁷ Zn	6.236 4±0.367 8	6.439 5±0.076 2	6.780 1±0.139 7	44.69
⁶⁸ Zn/ ⁶⁷ Zn	4.619 7±0.076 7	4.509 9±0.069 7	4.553 9±0.032 2	24.26
¹¹⁴ Cd/ ¹¹⁰ Cd	2.345 0±0.049 5	2.356 8±0.031 0	2.305 5±0.053 2	10.19
¹¹⁴ Cd/ ¹¹¹ Cd	2.285 6±0.058 0	2.321 7±0.050 4	2.328 7±0.065 1	3.08
¹¹⁴ Cd/ ¹¹² Cd	1.187 9±0.038 8	1.200 8±0.025 3	1.189 7±0.025 0	3.68
¹¹² Cd/ ¹¹⁰ Cd	1.974 1±0.064 1	1.998 4±0.053 9	1.933 3±0.069 3	7.96
¹¹² Cd/ ¹¹¹ Cd	1.898 6±0.027 8	1.916 6±0.042 5	1.913 9±0.018 4	1.33
¹¹¹ Cd/ ¹¹⁰ Cd	1.032 6±0.022 6	1.035 5±0.029 2	1.028 6±0.003 5	0.88
²⁰⁶ Pb/ ²⁰⁷ Pb	1.158 8±0.007 55	1.152 1±0.004 25	1.171 3±0.005 4	77.05
²⁰⁸ Pb/ ²⁰⁶ Pb	2.123 2±0.018 0	2.109 7±0.022 80	2.121 3±0.018 0	3.89

[†] *F*_{0.05(2,94)}=3.10,*F*_{0.01(2,94)}=4.84。

由表 1 可知,不同产地茶叶的部分同位素比值存在一定的差异性,在 95% 的显著水平上,²⁶Mg/²⁵Mg、⁶⁶Zn/⁶⁷Zn、⁶⁸Zn/⁶⁷Zn、¹¹⁴Cd/¹¹⁰Cd、¹¹⁴Cd/¹¹²Cd、¹¹²Cd/¹¹⁰Cd、²⁰⁶Pb/²⁰⁷Pb、²⁰⁸Pb/²⁰⁶Pb 8 个比值存在显著差异,而在 99% 显著水平上,这 8 个比值中的¹¹⁴Cd/¹¹²Cd 和²⁰⁸Pb/²⁰⁶Pb 差异不显著。其中 3 个产地的茶叶在²⁰⁶Pb/²⁰⁷Pb 和⁶⁶Zn/⁶⁷Zn 2 个比值的 *F* 值较大,表明在这两个方面的差异较为明显。

2.2 同位素比值的聚类分析

聚类分析是将样品个体或指标变量按其具有的特性进行分类的一种统计分析方法,常用的聚类分析方法有最短距离法、重心距离法、最小距离法等^{[7]362—367},在食品产地或品种鉴别方面已有较多的应用^[8—12]。本试验分别对指标变量

(同位素比值)和样品采用最小距离法进行聚类分析。从指标变量的聚类结果可看出,12 个指标变量大致可以分为三类(见图 1):一类由²⁰⁶Pb/²⁰⁷Pb、⁶⁶Zn/⁶⁷Zn、⁶⁸Zn/⁶⁷Zn、¹¹⁴Cd/¹¹⁰Cd、¹¹²Cd/¹¹⁰Cd、²⁶Mg/²⁵Mg 6 个指标构成,这是在产地鉴别分析中起主导作用的方面;其次是¹¹⁴Cd/¹¹²Cd 和²⁰⁸Pb/²⁰⁶Pb 聚为一类;其他 4 个指标聚为一类,指标变量聚类分析结果与方差分析的结果较为吻合。

结合方差分析和指标变量的聚类结果,选择²⁰⁶Pb/²⁰⁷Pb、⁶⁶Zn/⁶⁷Zn、⁶⁸Zn/⁶⁷Zn、¹¹⁴Cd/¹¹⁰Cd、¹¹²Cd/¹¹⁰Cd、²⁶Mg/²⁵Mg 6 个指标进行样品聚类,结果发现,安化、古丈和石门 3 个产地的样品较好地聚成了三类,仅有少量样品归类错误,其中 5 个古丈产地的样品(g12、g13、g16、g17、g21)误归类到安化;石门

产地的样品 s17 和 s34 分别误归类到安化和古丈;安化产地的样品 a8、a25、a38 分别误归类到古丈、石门(见图 2)。古丈、石门和安化 3 个产地样品聚类正确率分别为 78.26%,94.44%,92.10%,由此可见,采用同位素比值进行聚类分析,可以较好地区分 3 个产地的样品。

2.3 同位素比值的判别分析

判别分析方法有最大似然法、距离判别法、Bayes 法和 Fisher 法等,其中后 2 种较为常用^{[7]394-399}。判别分析方法在食品产地和品种鉴别方面也有较多的应用^[13-17],本试验采用 Bayes 法对茶叶产地进行鉴别分析,结果表明,安化、古丈和石门 3 个产地样品的判别正确率分别为 97.37%,86.96%,94.44%(见表 2),判别错误的样品编号分别为 a25、g16、g17、g20、s17、s34,与聚类分析结果相比,除古丈产地的 1 个样品(g20)不包含在聚类分析归类错误样品之内,其他的都包含

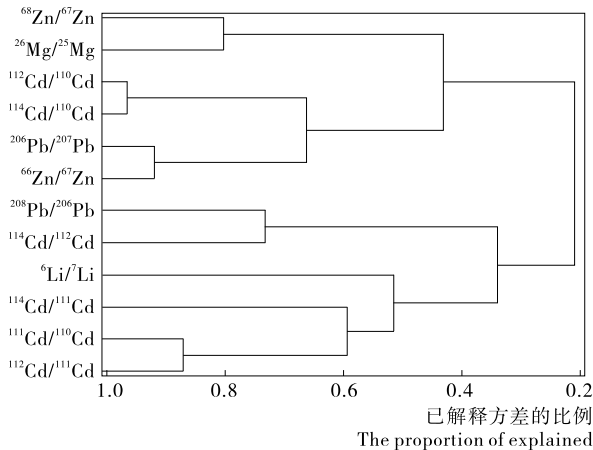


图 1 指标变量聚类分析结果

Figure 1 Results of cluster analysis of indicator variables

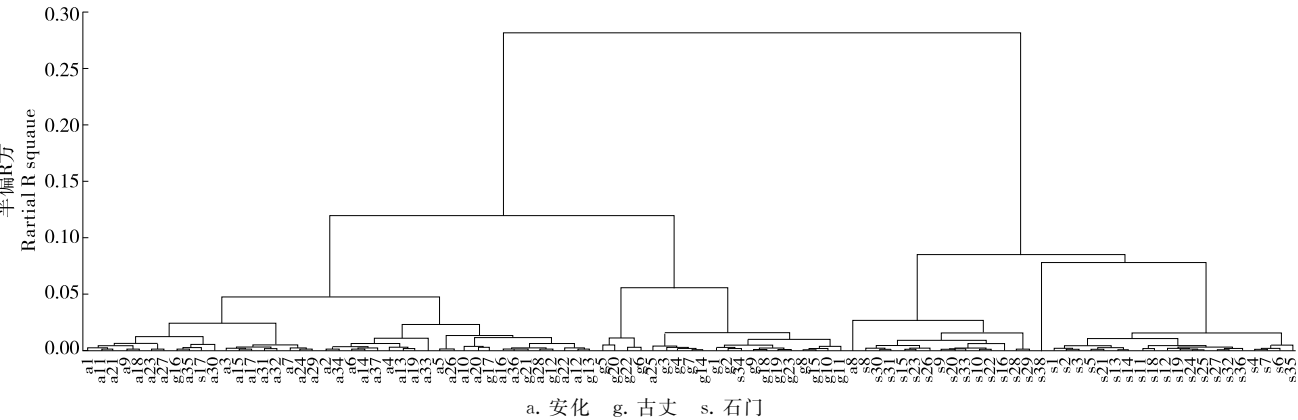


图 2 样本个体聚类分析结果

Figure 2 Results of cluster analysis of sample individuals

表 2 判别分析结果表

Table 2 Results table of discriminant analysis

地区	安化		古丈		石门	
	判入观测数	判入百分比/%	判入观测数	判入百分比/%	判入观测数	判入百分比/%
安化	37	97.37	3	13.04	1	2.78
古丈	1	2.63	20	86.96	1	2.78
石门	0	0.00	0	0.00	34	94.44

在内。从典型判别二维得分散点图也可以看出(图 3),3 个产地的样品较好地分为了 3 个区域,仅 9 个样品分到其他产地区域或者处于 2 个产地区域的交界处。从总体结果来看,对同位素比值进行判别分析,也能较好地鉴别茶叶产地,且与聚类分析的结果较为一致。

3 结论

本试验通过对湖南三大茶叶产地(安化、古丈、石门)共 97 份样品进行研究,测定并分析了不同产地茶叶中锂、镁、锌、镉、铅 5 种同位素比值的分布差异性,并采用 SAS 软件对经筛选后的 13 个同位素比值指标进行统计分析。结果发现,²⁰⁶Pb/²⁰⁷Pb、⁶⁶Zn/⁶⁷Zn、⁶⁸Zn/⁶⁷Zn、¹¹⁴Cd/¹¹⁰Cd、¹¹²Cd/¹¹⁰Cd、²⁶Mg/²⁵Mg 6 个指标在 3 个产地中存在显著性差异(99%显

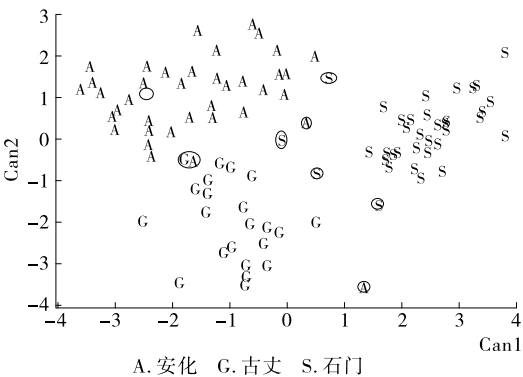


图 3 典型判别分析得分散点图

Figure 3 Dispersion point diagram of typical discriminant analysis

著水平),聚类分析结果显示古丈、石门和安化 3 个产地样品聚类正确率分别为 78.26%,94.44%,92.10%,判别分析结果显示 3 个产地的样品判别正确率分别为86.96%,94.44%,97.37%,且 2 种鉴别方法错判样品个体较为一致。由此可见,采用同位素比值的差异性结合 SAS 软件的聚类分析和判别分析,均能较好地对茶叶产地进行鉴别。

本试验虽然在一定程度上能较好地对茶叶产地进行鉴别,但由于采集的样品数量有限,而一个有效的产地鉴别方法,需要有大量的测定数据作为基础,因此,在后续工作还需进一步加大样本量的采集,深入分析不同品种、不同产地间同位素比值的差异与联系,建立同位素指纹图谱,为中国茶叶原产地保护、产地溯源及产业发展提供参考。

参考文献

[1] 许咏梅. 中国茶叶区域生产、消费和流通[J]. 茶叶, 2011, 37(3): 152-156.

[2] 管曦. 我国茶叶消费相关数据的讨论: 基于消费者层面的分析[J]. 中国茶叶, 2015(10): 11-12.

[3] 袁玉伟, 胡桂仙, 邵圣枝, 等. 茶叶产地溯源与鉴别检测技术研究进展[J]. 核农学报, 2013, 27(4): 452-457.

[4] BIZJAK B K, ELER K, MAZEJ D, et al. Isotopic and elemental characterisation of Slovenian apple juice according to geographical origin: Preliminary results[J]. Food Chemistry, 2016, 203: 86-94.

[5] HORACEK M, MINJ S. Discrimination of Korean beef from beef of other origin by stable isotope measurements[J]. Food Chemistry, 2010, 121(2): 517-520.

(上接第 46 页)

参考文献

[1] 李阳, 钟海燕, 李晓燕, 等. 煎炸用油品质变化及测定和方法研究进展[J]. 食品与机械, 2008, 24(6): 148-151.

[2] 吴晓华, 刘玉兰, 黄勤生. 煎炸油及煎炸专用棉籽油的研究进展[J]. 农业机械, 2012(36): 45-50.

[3] 穆昭. 煎炸油加热过程品质变化与评价[D]. 无锡: 江南大学, 2008.

[4] 王晨颖. 煎炸用油的品质管理的研究[D]. 上海: 华东理工大学, 2011: 2.

[5] 宋丽娟, 于修烛, 张建新, 等. 煎炸油在薯片煎炸过程中的品质变化[J]. 食品科学, 2011(5): 70-74.

[6] 陈锋亮, 魏益民, 钟耕. 大豆油高温煎炸质变过程的研究[J]. 中国油脂, 2006(8): 19-22.

[7] 季敏, 吴文民. 棕榈油和大豆油在油条煎炸过程中品质变化研究[J]. 粮食与油脂, 2009(4): 12-14.

[8] WARNER K, KNOWLTON S. Frying quality and oxidative stability of high-oleic corn oils[J]. American Oil Chemists'society, 1997(10): 1 317-1 322.

[9] 张清. 大豆油在不同煎炸体系中的特征理化性质的变化研究[D]. 北京: 中国农业大学, 2014: 27-30.

[10] 赵超敏. 煎炸油使用极限研究[D]. 成都: 西华大学, 2009: 30-33.

[6] PILGRIM T S, WATLING R, GRICE K. Application of trace element and stable isotope signatures to determine the provenance of tea (Camellia Sinensis) samples [J]. Food Chemistry, 2010, 118(4): 921-926.

[7] 汪海波, 罗莉, 吴为, 等. SAS 统计分析与应用从入门到精通[M]. 2 版. 北京: 人民邮电出版社, 2013.

[8] 李晓燕, 李忠海, 杨代明, 等. 基于模糊聚类分析的辣椒制品表观辣度分级研究[J]. 食品与机械, 2009, 25(2): 42-47.

[9] 刘晓伟, 李忠海, 杨代明, 等. 高效液相指纹图谱对食醋的掺伪判定研究[J]. 中国调味品, 2010, 35(6): 96-98, 105.

[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, 2006, 25(1): 22-26.

[11] 申丽娟, 丁恩俊, 谢德体, 等. 电感耦合等离子体原子发射光谱法测定不同产地山银花金属元素主成分及其聚类分析[J]. 食品科学, 2014, 35(2): 173-176.

[12] 课净璇, 黎杉珊, 申光辉, 等. 基于双指标分析法和聚类分析法的花椒红外指纹图谱研究[J]. 食品与机械, 2017, 33(3): 55-61.

[13] 胡国梁, 徐立荣, 许生陆, 等. 基于电子鼻的食用油氧化判别分析[J]. 食品科学, 2016, 37(20): 141-145.

[14] 王同珍, 陈孝建, 安爱, 等. 气相色谱-质谱技术结合化学计量学对 5 种动物油进行判别分析[J]. 分析测试学报, 2016, 35(5): 557-562.

[15] 谭超, 戴波, 刘华戎, 等. 不同品种红茶及茶膏的 Fisher 判别分析[J]. 食品科学, 2016, 37(7): 62-65.

[16] 张玥, 王朝辉, 张亚婷, 等. 基于主成分分析和判别分析的大米产地溯源[J]. 中国粮油学报, 2016, 31(4): 1-5.

[17] 陈辰, 鲁晓翔, 张鹏, 等. 基于电子鼻技术的玫瑰香葡萄贮藏期快速判别[J]. 食品与机械, 2015, 31(6): 137-141.

[11] 毕艳兰. 油脂化学[M]. 北京: 化学工业出版社, 2005: 70, 78, 80, 208.

[12] 马玉婷, 侯利霞, 刘玉兰, 等. 玉米油在油条煎炸过程中的品质变化[J]. 食品与机械, 2016, 32(2): 16-19.

[13] RAMADAN M F, AMER M M A, SULIEMAN A E M. Correlation between physicochemical analysis and radical-scavenging activity of vegetable oil blends as affected by frying of French fries[J]. Eur J Lipid Sci Technol, 2006, 108(8): 670-678.

[14] PAUT S, MITTAL G S, CHINNAN M S. Regulating the use of degraded oil/fat in deep-fat/oil food frying[J]. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 1997, 37(7): 635-662.

[15] FERREIDON Shahidi. Bailey's industrial oil and fat products: Six Volume Set[J]. 6th ed. [S.L.]: John Wiley & Sons, Inc, 2005: 13.

[16] 李桂花, 刘振涛, 霍华美. 煎炸条件对玉米油品质裂变的影响研究[J]. 粮油加工, 2012(8): 69-72.

[17] 周婷, 李志健. 不同介质热处理对油脂酸值和羰基值的影响[J]. 粮油食品科技, 2015, 23(2): 40-43.

[18] 王永巍, 王欣, 刘宝林, 等. 低场核磁共振技术检测煎炸油品质[J]. 食品科学, 2012, 33(6): 171-175.

[19] 史然, 王欣, 刘宝林, 等. 油脂低场核磁(LF-NMR)检测参数的优化试验[J]. 分析测试学报, 2012, 31(11): 1 365-1 372.