

# 基于脂肪酸指纹图谱的我国羊肉产地溯源研究

贾菲菲<sup>1</sup>, 王钢力<sup>2</sup>, 冯芳<sup>2</sup>, 曹进<sup>2\*</sup>

(1. 中国药科大学药学院, 南京 210000; 2. 中国食品药品检定研究院, 北京 100050)

**摘要:** **目的** 优化建立羊肉脂肪酸组成的测定方法, 并分析不同产地来源的羊肉中脂肪酸含量的差异。**方法** 利用气相-氢火焰离子化技术(gas chromatography-flame ionization detection, GC-FID)测定来自内蒙古、新疆、山东和云南 4 个产区羊肉的脂肪酸组成, 结合主成分分析(principal component analysis, PCA)、聚类分析(hierarchical cluster analysis, HCA)和线性判别分析(linear discriminant analysis, LDA)等统计学方法进行数据分析。**结果** 最佳甲酯化条件为甲酯化试剂 2 mL, 甲酯化反应温度 40 °C, 甲酯化反应时间 30 min。19 种脂肪酸精密密度为 1.07%~7.97%, 回收率为 63.75%~120.00%。有 14 种脂肪酸在 4 个产区羊肉中有显著性差异, 分别是 C10:0、C12:0、C14:0、C14:1、C17:0、C18:1n9t、C18:1n9c、C18:2n6c、C20:1、C18:3n3、C22:0、C20:4n6、C20:5n3 和 C22:6n3。筛选出 C14:0、C14:1、C18:1n9t、C18:2n6c、C18:3n3、C22:0、C20:4n6 和 C20:5n3 8 种脂肪酸作为羊肉产地来源的判别指标, 所建立的判别模型对样品的回代检验和交叉检验正确率分别为 100% 和 88%, 4 个产区的羊肉样品能够基本得到区分。**结论** 通过对羊肉中脂肪酸组成的测定和判别模型的建立, 可有效地对羊肉的主要产地进行区分, 为羊肉的产地溯源提供了有效的技术手段。

**关键词:** 脂肪酸指纹; 羊肉; 产地溯源

## Study on origin traceability of mutton in China based on fatty acid fingerprint

JIA Fei-Fei<sup>1</sup>, WANG Gang-Li<sup>2</sup>, FENG Fang<sup>2</sup>, CAO Jin<sup>2\*</sup>

(1. School of Pharmacy, China Pharmaceutical University, Nanjing 210000, China;  
2. National Institutes for Food and Drug Control, Beijing 100050, China)

**ABSTRACT: Objective** To optimize and establish a method for determination of fatty acid composition in mutton, and analyze the difference of fatty acid content in mutton from different origins. **Methods** Fatty acid compositions of mutton from Inner Mongolia, Xinjiang, Shandong, and Yunnan were determined by gas phase-hydrogen flame ionization gas chromatography-flame ionization detection (GC-FID), and the data was analyzed by principal component analysis (PCA), cluster analysis hierarchical cluster analysis (HCA) and linear discriminant analysis (LDA). **Results** The optimal methyl esterification conditions were as follow: 2 mL methyl esterification reagent, 40 °C of reaction temperature, and 30 min of reaction time. The precisions of 19 kinds of fatty acids were 1.07%~7.97%, while the recoveries were 63.75%~120.00%. There were 14 kinds of fatty acids with significant differences in the mutton produced from the 4 producing areas, which were C10:0, C12:0, C14:0, C14:1, C17:0, C18:1n9t, C18:1n9c, C18:2n6c, C20:1, C18:3n3, C22:0, C20:4n6, C20:5n3 and C22:6n3. Then 8 kinds of fatty acids, C14:0, C14:1, C18:1n9t, C18:2n6c, C18:3n3, C22:0, C20:4n6 and C20:5n3 were selected as the discriminant indexes

\*通信作者: 曹进, 博士, 研究员, 主要研究方向为食品安全检测。E-mail: caojin@nifdc.org.cn

\*Corresponding author: CAO Jin, Ph.D., Professor, National Institutes for Food and Drug Control, 2 Tiantan Xili, Dongcheng District, Beijing 100050, China. E-mail: caojin@nifdc.org.cn

of mutton origin by step-by-step discriminant analysis. The accuracy rates of back generation inspection and cross test for samples established by the discriminant model were 100% and 88%, respectively. Mutton samples from 4 producing areas could be basically separated. **Conclusion** The determination of fatty acid composition in mutton and the establishment of the discriminant model can effectively distinguish the main producing areas of mutton, and provide an effective technical means for the origin traceability of mutton.

**KEY WORDS:** fatty acid fingerprint; mutton; origin traceability

## 0 引言

随着生活品质的提高, 消费者关注的不仅仅是食品质量等问题, 而是越来越重视食品品质。有调查研究表明, 消费者将产地来源作为高品质食品的一个重要参数<sup>[1]</sup>。羊肉具有高蛋白、低脂肪和营养价值高等特点, 在我国有着长期的食用历史, 其产量和消费也长期居世界前列<sup>[2]</sup>。欧盟 1760/2000 法规<sup>[3]</sup>要求, 从 2005 年开始, 所有进出口的食品必须注明其产地来源。《中华人民共和国食品安全法》<sup>[4]</sup>第 42 条规定, 国家建立食品安全全程追溯制度。食品生产经营者应当依照本法的规定, 建立食品安全追溯体系, 保证食品可追溯。但是长期以来, 国内针对羊肉的溯源体系并不完善, 多数羊肉无明显的产地标识, 亟需建立一套科学、完善的技术体系来追溯产品的产地来源信息<sup>[5]</sup>。目前, 用于产地溯源的化学分析手段主要包括质谱、光谱及色谱指纹技术等。质谱溯源技术是基于物质化学组分的离子质荷比大小不同而形成不同的谱图, 主要有稳定同位素技术和电感耦合等离子体技术。如 SARA 等<sup>[6]</sup>在 2016 年对非洲不同地区的羊肉进行研究, 发现碳同位素可以作为鉴别饲料的重要元素, 不同饲料饲喂的动物均会呈现出不同的同位素特性, 可以将其作为产地溯源的重要指标。孙淑敏等<sup>[7]</sup>利用稳定同位素技术测定来自内蒙古呼伦贝尔、锡林郭勒盟和阿拉善盟 3 个牧区, 山东菏泽市和重庆市 2 个农区脱脂羊肉中的碳、氮和氢同位素值, 通过三项指标结合对羊肉产地的正确判别率达到 89.9%。光谱指纹技术可为食品溯源提供一种高效、经济的分析手段, 主要有红外光谱法、紫外光谱法、拉曼光谱法、荧光光谱法和核磁共振光谱法。如张德权等<sup>[8]</sup>利用近红外光谱法结合簇类独立软模式法建立了羊肉产地溯源模型。结果显示, 光谱经 5 点平滑和多元散射校正预处理后, 4 个产地校正模型对未知样本的识别率分别为 95%、100%、100%和 100%, 拒绝率均为 100%。孙淑敏等<sup>[9]</sup>对 5 个产地的羊肉样品近红外光谱数据进行一阶、二阶求导、多元散射校正以及归一化等预处理, 利用主成分结合线性判别分析法及偏最小二乘判别分析法 2 种方法建立溯源模型。结果表明, 利用前种方法, 农区和牧区可被有效区分开, 其正确判别率为 100%。色谱指纹技术是将待测物分离后分析<sup>[10]</sup>, 包括气相色谱法、高效液相色谱法和电子鼻技术。其中, 气相色谱法测定脂肪酸技术灵

敏度高, 分析速度快, 与多元统计方法结合可以有效筛选出溯源指标, 建立溯源模型<sup>[11]</sup>, 使其在食品溯源中应用广泛。如朱喜艳等<sup>[12]</sup>对青海和日本羊肉中的脂肪酸含量进行了测定和比较, 发现 C14:0、C14:1、C18:2 和共轭亚麻油酸(conjugated linoleic acid, CLA)所含比例差别较大, 表明用高营养的配合饲料喂养的羊和天然放牧羊的脂肪酸含量有明显的差异。程碧泉等<sup>[11]</sup>筛选出  $\alpha$ -C18:3、C14:0、C17:0、饱和脂肪酸(saturated fatty acid, SFA)和单不饱和脂肪酸(monounsaturated fatty acid, MUFA)五项可用于牛肉产地溯源的判别指标, 对吉林、宁夏、贵州和河北四大产区肉牛的整体判别率为 82.0%, 并分析了饲料和不同饲养期对牛肉产地溯源的影响。FISHER 等<sup>[13]</sup>研究表明, 由于牧草中 C18:3 含量较高, 牧区的羊相比农区饲喂精饲料的羊来说, 含有较高浓度的 C18:3。这些研究为利用脂肪酸进行羊肉的产地溯源提供了理论依据。我国肉羊大致分为四大产区, 分别为西南、西北、中原和东北产区, 本研究从四大产区中各自选择一个代表性省份进行研究, 通过测定不同产地来源的羊肉样品中脂肪酸含量, 筛选出有效的溯源指标, 并结合判别分析等统计学方法建立羊肉产地溯源模型, 以期对羊肉产地溯源提供参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 仪器

GC2010 Plus 气相色谱仪(日本 Shimadzu 公司); XP 205 电子天平(瑞士 METTLER TOLEDO 公司); XMTD-6000 恒温水浴锅(北京长风仪器仪表公司); R-210 旋转蒸发器(瑞士 BUCHI 公司); VORTEX-5 涡旋振荡器(江苏 Kylin-Bell 公司); HC-3018R 离心机(安徽中科中佳科学仪器有限公司); Millipore 超纯水仪(美国 Millipore 公司)。

### 1.2 试剂

37 种脂肪酸甲酯混标(货号: BePure-30777)、37 种脂肪酸标准品(纯度 99.4%~99.8%)(北京振翔科技有限公司); 盐酸(优级纯)、无水乙醇、乙醚、石油醚(30~60 °C)、异辛烷和氢氧化钾(分析纯, 国药集团化学试剂有限公司); 甲醇(色谱纯, 美国 Fisher Chemical 公司); 无水硫酸钠(纯度 99%, 美国 Sigma-Aldrich 公司)。

### 1.3 样品来源

在西北、西南、中原和东北 4 个羊肉主产区各选择一个省份,分别为新疆、云南、山东和内蒙古。每个省份均选择 2~3 个城市进行采样。其中,新疆选择塔城、阿勒泰和昌吉 3 个城市;云南选择大理白族自治州、楚雄彝族自治州 2 个城市;山东选择单县、枣庄和潍坊 3 个城市;内蒙古选择锡林郭勒盟和巴彦淖尔 2 个城市。购买的羊肉均为 6 个月月龄左右的山羊羔。于 2020 年夏季至秋季,按照上述分布在网上购买内蒙古、新疆、云南和山东 4 个地区山羊羔样品的后腿肉共 50 份,购买前向商家核实实际产地以确保产地真实性。其中,内蒙古采集点肉样 14 份,新疆、云南和山东各 12 份。

### 1.4 实验方法

#### 1.4.1 样品前处理

在 GB 5009.257—2016《食品安全国家标准 食品中反式脂肪酸的测定》的基础上,对羊后腿肉中脂肪酸甲酯的制备方法进行了优化改进。具体步骤:(1)称取羊肉样品 2.0 g,加入 8 mL 水和 10 mL 盐酸混匀。将上述试管放入 60~70 °C 水浴中,约 40~50 min 至试样完全水解。取出试管,加入 10 mL 乙醇,充分混合后冷却至室温。(2)将混合物移入 125 mL 分液漏斗中,以 25 mL 乙醚分 2 次润洗试管,脂肪溶解在乙醚中,可通过萃取得到。并用适量的石油醚-乙醚溶液(1:1, V:V)冲洗瓶塞及瓶口附着的脂肪,按前述萃取步骤重复提取 2 次。将全部有机相过适量的无水硫酸钠柱,收取全部流出液至已恒重的圆底烧瓶中,50 °C 水浴下旋转蒸去溶剂。(3)加入 4 mL 异辛烷溶解,加入 2 mol/L 氢氧化钾-甲醇溶液 2 mL,涡旋混匀 1 min,静置 30 min 分层,加入 1 g 硫酸氢钠中和过量的氢氧化钾,涡旋混匀 30 s,于 4000 r/min 下离心 5 min,上清液经 0.45 mm 滤膜过滤,滤液作为试样待测液。

#### 1.4.2 仪器分析条件

①色谱柱:SUPELCO sp-2560 毛细管柱(100.0 m×0.25 mm, 0.20 μm);②分流模式进样,分流比为 100:1 (V:V);③进样量为 1 mL;④升温程序:起始温度 140 °C,维持 10 min,以 4 °C/min 升至 220 °C,维持 10 min;再以 4 °C/min 升温至 240 °C,维持 5 min。进样口温度 260 °C,检测器温度 260 °C;⑤气体流速:氮气 30 mL/min,氢气 40 mL/min,空气 400 mL/min。

## 2 结果与分析

### 2.1 甲酯化条件的优化

在单因素预实验基础上,选用甲酯化试剂氢氧化钾-甲醇的体积(A)、甲酯化反应的温度(B)和时间(C)为考察因素<sup>[14]</sup>,测得总脂肪酸甲酯含量为评价指标,称取同一批羊肉样品 9 份,每份 2.0 g,按  $L_9(3^3)$  正交表进行实验设计,实

验安排及结果见表 1,方差分析见表 2。

表 1  $L_9(3^3)$  正交实验设计与结果  
Table 1  $L_9(3^3)$  orthogonal test design and results

实验号	A/mL	B/°C	C/min	总脂肪酸甲酯含量/(mg/mL)
1	1(1)	30(1)	20(1)	3.897
2	1	40(2)	40(3)	4.012
3	1	50(3)	30(2)	3.986
4	2(2)	30	40	5.432
5	2	40	30	5.793
6	2	50	20	5.324
7	3(3)	30	30	5.225
8	3	40	20	5.217
9	3	50	40	5.089
K1	3.965	4.851	4.813	
K2	5.516	5.007	5.001	
K3	5.177	4.800	4.844	
R	1.551	0.207	0.188	

表 2 方差分析  
Table 2 Analysis of variance

因素	偏差平方和	自由度	F 值	显著性
A	3.991	2	487.096	0.002
B	0.070	2	8.560	0.105
C	0.061	2	7.476	0.118

由表 1 中极差大小显示,各因素作用主次为  $A>B>C$ ;由表 2 可知,因素 A 具有显著性差异,B 和 C 因素差异无统计学意义。从而确定最佳甲酯化条件为  $A_2B_2C_2$ ,即最佳甲酯化条件为甲酯化试剂 2 mL,甲酯化反应温度 40 °C,甲酯化反应时间 30 min。

验证实验:称取羊肉样品 3 份,每份 2.0 g,按正交实验优选的甲酯化条件进行验证实验,测得总脂肪酸甲酯含量平均为 5.677 mg/mL,表明该优化工艺稳定可行。

### 2.2 线性关系和检出限

将 37 种脂肪酸甲酯用色谱级异辛烷配制成混标贮备液,然后依次稀释成混合标准液系列,以保留时间定性,峰面积定量,以峰面积 Y 对应脂肪酸甲酯浓度(X, mg/mL)绘制标准曲线及进行线性回归分析。方法检出限运用低浓度曲线外推法得出,并经实验验证。各脂肪酸甲酯的线性关系、相关系数和方法检出限见表 3。由表 3 可知,相关系数  $r$  均大于 0.998,线性关系良好,检出限为 0.11~3.90 mg/L,满足检测要求。

表 3 37 种脂肪酸甲酯的线性关系、相关系数和方法检出限  
 Table 3 Linear relationships, correlation coefficients and detection limits of 37 kinds of fatty acid methyl esters

序号	脂肪酸简称	线性范围/(mg/mL)	线性方程	相关系数 $r$	方法检出限/(mg/L)
1	C4:0	0.010~0.200	$Y=112654X+2653.660$	1.0000	3.90
2	C6:0	0.010~0.200	$Y=205885X+572.546$	1.0000	0.11
3	C8:0	0.010~0.200	$Y=255825X+866.290$	1.0000	0.13
4	C10:0	0.010~0.200	$Y=277285X+1108.28$	0.9993	1.68
5	C11:0	0.005~0.100	$Y=282638X+634.259$	0.9993	1.70
6	C12:0	0.010~0.200	$Y=297987X+1286.950$	0.9994	1.70
7	C13:0	0.005~0.100	$Y=304902X+670.649$	0.9991	1.70
8	C14:0	0.010~0.200	$Y=316153X+1395.270$	0.9995	1.77
9	C14:1	0.005~0.100	$Y=306062X+672.734$	0.9992	1.61
10	C15:0	0.005~0.100	$Y=329773X+660.361$	0.9993	1.70
11	C15:1	0.005~0.100	$Y=310866X+736.433$	0.9992	1.50
12	C16:0	0.015~0.300	$Y=338666X+1981.070$	0.9995	1.58
13	C16:1	0.005~0.100	$Y=322863X+769.343$	0.9993	1.50
14	C17:0	0.005~0.100	$Y=335754X+871.402$	0.9993	1.50
15	C17:1	0.005~0.100	$Y=331127X+814.585$	0.9993	1.00
16	C18:0	0.010~0.200	$Y=354022X+1648.950$	0.9994	1.70
17	C18:1n9t	0.005~0.100	$Y=339066X+804.237$	0.9993	1.62
18	C18:1n9c	0.010~0.200	$Y=350510X+1548.060$	0.9994	1.70
19	C18:2n6t	0.005~0.100	$Y=343648X+846.251$	0.9990	1.20
20	C18:2n6c	0.005~0.100	$Y=346906X+821.506$	0.9991	1.70
21	C20:0	0.010~0.200	$Y=375715X+1811.600$	0.9992	1.50
22	C18:3n6	0.005~0.100	$Y=338148X+781.705$	0.9992	1.20
23	C20:1	0.005~0.100	$Y=352124X+851.621$	0.9991	1.50
24	C18:3n3	0.005~0.100	$Y=340608X+858.825$	0.9993	1.50
25	C21:0	0.005~0.100	$Y=381629X+1128.560$	0.9987	1.27
26	C20:2	0.005~0.100	$Y=347186X+874.854$	0.9999	1.42
27	C22:0	0.010~0.200	$Y=408464X+2054.710$	0.9992	1.33
28	C20:3n6	0.005~0.100	$Y=346712X+813.536$	1.0000	1.58
29	C22:1n9	0.005~0.100	$Y=350861X+963.163$	0.9990	1.43
30	C20:3n3	0.005~0.100	$Y=342934X+769.481$	0.9999	1.78
31	C20:4n6	0.005~0.100	$Y=345190X+764.755$	0.9994	1.70
32	C23:0	0.005~0.100	$Y=404336X+1135.730$	0.9991	1.70
33	C22:2	0.005~0.100	$Y=348216X+967.924$	0.9992	1.78
34	C24:0	0.010~0.200	$Y=423535X+2256.120$	0.9993	1.45
35	C20:5n3	0.005~0.100	$Y=334479X+867.408$	0.9998	1.70
36	C24:1	0.005~0.100	$Y=328701X+930.054$	0.9991	1.78
37	C22:6n3	0.005~0.100	$Y=324157X+1002.770$	0.9994	1.70

### 2.3 回收率和精密度

在线性范围内选择低、中、高3个浓度水平,平行测定6组。其中,最低浓度水平在定量限附近。计算目标检出量扣去样品本底值与目标物添加量的比值平均值为平均回收率;针对每个目标物的6组回收率计算其相对标准偏差(relative standard deviation, RSD)为精密度,结果见表4。

19种脂肪酸精密度为1.07%~7.97%,回收率为63.75%~120.00%,满足检测的要求。

### 2.4 不同产地羊肉脂肪酸差异分析

对数据进行单因素方差分析和Duncan多重比较分析,见表5。结果表明,除C15:0、C16:0、C16:1、C18:0和C20:0外,其余脂肪酸在地域间存在一定的显著性差异。

表4 羊肉样品中加标回收率和精密度结果( $n=6$ )  
Table 4 Recoveries and precision results of mutton samples with added standard ( $n=6$ )

序号	脂肪酸名称	添加量/mg	添加水平 1 回收率/%	RSD/%	添加量/mg	添加水平 2 回收率/%	RSD/%	添加量/mg	添加水平 3 回收率/%	RSD/%
1	C10:0	0.16	90.00	4.31	0.32	96.25	5.97	0.64	74.38	6.82
2	C12:0	0.16	95.00	2.70	0.32	97.50	2.39	0.64	74.38	4.05
3	C14:0	0.16	117.50	4.18	0.32	91.25	2.16	0.64	76.88	7.33
4	C14:1	0.08	90.00	5.08	0.16	95.00	3.38	0.32	72.50	7.49
5	C15:0	0.08	100.00	3.22	0.16	97.50	1.24	0.32	71.25	1.46
6	C16:0	0.24	82.07	2.93	0.48	78.16	1.82	0.96	71.06	2.35
7	C16:1	0.08	110.00	3.41	0.16	90.00	2.95	0.32	65.00	6.08
8	C17:0	0.08	105.00	1.62	0.16	95.00	3.94	0.32	63.75	5.47
9	C18:0	0.16	115.00	3.59	0.32	81.25	1.83	0.64	76.80	5.26
10	C18:1n9t	0.08	75.00	2.48	0.16	90.00	3.68	0.32	75.10	7.95
11	C18:1n9c	0.16	85.07	3.72	0.32	76.84	4.90	0.64	65.93	6.66
12	C18:2n6c	0.08	115.00	1.07	0.16	90.00	3.29	0.32	77.50	5.43
13	C20:0	0.16	90.00	2.30	0.32	97.50	1.83	0.64	75.00	4.94
14	C20:1	0.08	90.00	4.73	0.16	97.50	1.69	0.32	73.75	5.21
15	C18:3n3	0.08	100.00	3.92	0.16	95.00	4.87	0.32	70.00	6.07
16	C22:0	0.16	87.85	2.05	0.32	74.29	7.97	0.64	72.12	5.82
17	C20:4n6	0.08	90.00	2.68	0.16	92.50	3.49	0.32	71.25	6.27
18	C20:5n3	0.08	120.00	2.83	0.16	100.00	3.54	0.32	76.25	3.05
19	C22:6n3	0.08	90.00	3.92	0.16	100.00	6.89	0.32	76.25	5.97

表5 羊肉样品中各脂肪酸含量( $n=3$ )  
Table 5 Content of fatty acids in mutton samples ( $n=3$ )

序号	脂肪酸名称	羊肉产地及含量/(mg/mL)			
		内蒙古	新疆	山东	云南
1	C10:0	0.011±0.002 <sup>a</sup>	0.012±0.004 <sup>a</sup>	0.005±0.001 <sup>b</sup>	0.005±0.002 <sup>b</sup>
2	C12:0	0.022±0.005 <sup>a</sup>	0.0245±0.007 <sup>a</sup>	0.007±0.002 <sup>b</sup>	0.005±0.001 <sup>b</sup>
3	C14:0	0.300±0.090 <sup>a</sup>	0.278±0.060 <sup>a</sup>	0.148±0.050 <sup>b</sup>	0.196±0.051 <sup>ab</sup>
4	C14:1	0.013±0.004 <sup>a</sup>	0.009±0.003 <sup>a</sup>	0.003±0.001 <sup>b</sup>	0.009±0.003 <sup>a</sup>
5	C15:0	0.039±0.009 <sup>a</sup>	0.031±0.006 <sup>a</sup>	0.033±0.008 <sup>a</sup>	0.031±0.007 <sup>a</sup>
6	C16:0	1.625±0.350 <sup>a</sup>	1.469±0.735 <sup>a</sup>	1.460±0.523 <sup>a</sup>	2.220±0.383 <sup>a</sup>
7	C16:1	0.177±0.05 <sup>a</sup>	0.134±0.069 <sup>a</sup>	0.118±0.036 <sup>a</sup>	0.242±0.044 <sup>a</sup>
8	C17:0	0.089±0.017 <sup>b</sup>	0.097±0.028 <sup>ab</sup>	0.084±0.003 <sup>b</sup>	0.111±0.026 <sup>a</sup>
9	C18:0	0.938±0.237 <sup>a</sup>	0.824±0.187 <sup>a</sup>	1.241±0.408 <sup>a</sup>	1.329±0.356 <sup>a</sup>
10	C18:1n9t	0.050±0.011 <sup>ab</sup>	0.033±0.008 <sup>b</sup>	0.033±0.009 <sup>b</sup>	0.059±0.070 <sup>a</sup>

表 5(续)

序号	脂肪酸名称	羊肉产地及含量/(mg/mL)			
		内蒙古	新疆	山东	云南
11	C18:1n9c	2.634±0.485 <sup>b</sup>	2.312±0.366 <sup>b</sup>	2.407±0.650 <sup>b</sup>	4.588±1.064 <sup>a</sup>
12	C18:2n6c	0.197±0.048 <sup>b</sup>	0.192±0.047 <sup>b</sup>	0.198±0.047 <sup>b</sup>	0.331±0.072 <sup>a</sup>
13	C20:0	0.005±0.001 <sup>a</sup>	0.005±0.001 <sup>a</sup>	0.004±0.001 <sup>a</sup>	0.003±0.001 <sup>a</sup>
14	C20:1	0.004±0.001 <sup>b</sup>	0.003±0.001 <sup>b</sup>	0.003±0.001 <sup>b</sup>	0.008±0.003 <sup>a</sup>
15	C18:3n3	0.039±0.008 <sup>a</sup>	0.039±0.005 <sup>a</sup>	0.022±0.007 <sup>b</sup>	0.028±0.004 <sup>b</sup>
16	C22:0	0.005±0.001 <sup>b</sup>	0.006±0.002 <sup>b</sup>	0.013±0.003 <sup>a</sup>	0.005±0.001 <sup>b</sup>
17	C20:4n6	0.026±0.007 <sup>b</sup>	0.025±0.005 <sup>b</sup>	0.030±0.005 <sup>a</sup>	0.033±0.009 <sup>a</sup>
18	C20:5n3	0.022±0.005 <sup>a</sup>	0.016±0.004 <sup>a</sup>	0.005±0.001 <sup>b</sup>	0.005±0.001 <sup>b</sup>
19	C22:6n3	0.003±0.001 <sup>a</sup>	0.002±0.001 <sup>a</sup>	0.002±0.001 <sup>a</sup>	0.000±0.000 <sup>b</sup>

注: 表中数据均为平均值±标准偏差; 不同的小写字母表示有显著性差异( $P < 0.05$ )。

## 2.5 羊肉脂肪酸含量的主成分分析

对不同羊肉产区的 14 个脂肪酸数据归一化处理后, 进行主成分分析<sup>[15]</sup>, 结果表明前 5 个主成分的累计方差贡献率达到 89.213%。从主成分的特征向量中可以看出, 第一主成分主要综合了羊肉样品中 C10:0、C12:0、C14:0、C18:3n3 和 C20:5n3 的信息, 第二主成分主要综合了 C18:1n9t 和 C18:1n9c 的信息, 第三主成分主要综合了 C22:0, 第四主成分主要综合了 C18:1n9c 和 C20:1 的信息, 第五主成分主要综合了 C15:0、C18:1n9t 和 C22:0 的信息(表 6)<sup>[16]</sup>。利用第一主成分和第二主成分的标准化的得分作散点图(图 1)。结果表明, 通过第一和第二主成分得分可区分农区(云南和山东)和牧区(内蒙古和新疆)的羊肉样品, 农区的第一主成分均为负值, 牧区的第一主成分均为正值。但是农区云南和山东、牧区内蒙古和新疆并不能区分开<sup>[17]</sup>。

## 2.6 羊肉脂肪酸含量的聚类分析

为初步判断脂肪酸含量对羊肉产地的分类情况, 利用羊肉的前 5 个主成分标准化得分进行系统聚类分析。聚类分析采用 Q 型系统聚类法, 聚类距离为欧式距离, 聚类方法为 Ward 离差平方和法, 结果用聚类树形图表示, 结果见图 2。从聚类距离 20 处将树形图切断, 可将羊肉样品分为四类<sup>[18]</sup>。第一类主要为山东的样品, 其中包括了 6 个云南的样品; 第二类全部为新疆的样品; 第三类主要为新疆和云南的混合样品; 第四类主要为内蒙古的样品, 其中包括了一个新疆的样品。聚类结果与样品的实际来源情况基本一致, 初步表明脂肪酸含量指标基本可以有效区分羊肉的产地来源<sup>[19]</sup>。

## 2.7 不同产地羊肉的线性判别分析

为明确各脂肪酸指标在羊肉产地判别中的作用, 对地域间差异显著的 14 个脂肪酸进行逐步判别分析。在 0.05 的显著水平上, C14:0、C14:1、C18:1n9t、C18:2n6c、C18:3n3、

C22:0、C20:4n6 和 C20:5n3 8 种脂肪酸对地域判别作用显著的指标先后被引入到判别模型中, 并建立如下判别模型:

表 6 前 5 个主成分中各变量的特征向量及累计方差贡献率  
Table 6 Characteristic vectors and cumulative variance contribution rates of each variable in the first five principal components

脂肪酸名称	成份				
	PCA1	PCA2	PCA3	PCA4	PCA5
C10:0	0.337	-0.117	-0.133	0.237	0.122
C12:0	0.350	-0.083	-0.154	0.226	-0.015
C14:0	0.363	0.031	-0.055	0.116	-0.060
C14:1	0.312	0.248	0.157	-0.051	0.241
C17:0	0.170	-0.347	-0.438	0.190	0.191
C18:1n9t	0.057	0.489	-0.162	-0.364	0.554
C18:1n9c	-0.143	0.455	-0.012	0.414	-0.029
C18:2n6c	-0.312	-0.136	-0.158	-0.027	0.432
C20:1	-0.090	0.329	0.239	0.631	0.091
C18:3n3	0.348	0.129	0.114	-0.222	0.132
C22:0	0.018	-0.348	0.496	0.197	0.549
C20:4n6	-0.339	-0.225	-0.077	0.095	0.217
C20:5n3	0.359	-0.096	-0.047	0.098	0.045
C22:6n3	0.109	-0.161	0.603	-0.175	-0.126
方差贡献率/%	48.445	15.454	12.397	8.710	4.157
累计贡献率/%	48.445	63.899	76.296	85.006	89.163

$$Y_{\text{内蒙古}} = 216.603 \text{ C14:0} + 44.201 \text{ C14:1} + 74.299 \text{ C18:1n9t} - 48.464 \text{ C18:2n6c} + 436.023 \text{ C18:3n3} - 25.964 \text{ C22:0} + 114.285 \text{ C20:4n6} + 12.706 \text{ C20:5n3} - 226.680$$

$$Y_{\text{新疆}} = 668.774 \text{ C14:0} - 111.625 \text{ C14:1} + 17.1434 \text{ C18:1n9t} - 22.767 \text{ C18:2n6c} + 43.502 \text{ C18:3n3} + 0.122 \text{ C22:0} + 218.517 \text{ C20:4n6} + 128.134 \text{ C20:5n3} - 315.258$$

$$Y_{\text{山东}} = 44.795 \text{ C14:0} + 19.749 \text{ C14:1} + 19.851 \text{ C18:1n9t} + 148.524 \text{ C18:2n6c} + 77.585 \text{ C18:3n3} + 44.151 \text{ C22:0} + 289.119 \text{ C20:4n6} - 5.511 \text{ C20:5n3} - 166.480$$

$$Y_{\text{云南}} = 43.157 C_{14:0} + 8.567 C_{14:1} + 12.171 C_{18:1n9t} + 94.487 C_{18:2n6c} + 33.998 C_{18:3n3} + 29.310 C_{22:0} + 207.346 C_{20:4n6} - 0.710 C_{20:5n3} - 77.392$$

利用此判别模型对样品进行回代检验和交叉检验, 判别情况如表 7。结果表明, 羊肉样品产地来源的整体判别效果比较理想。单个产地的回代和交叉检验的整体正确率分别为 100%和 88%。交叉检验中, 内蒙古有 1 个错判为山东, 新疆错判为内蒙古和山东各 1 个, 山东错判为新疆和云南各 1 个, 云南有 1 个错判为山东。

利用脂肪酸指标在 2 个函数的判别得分做散点图, 用于区分 4 个产区的羊肉样品。结果如图 3 所示, 通过 2 个函数的判别得分可以直观地将 4 个产区的羊肉样品分成 3 个区域, 其中山东和云南有交叉<sup>[20]</sup>。

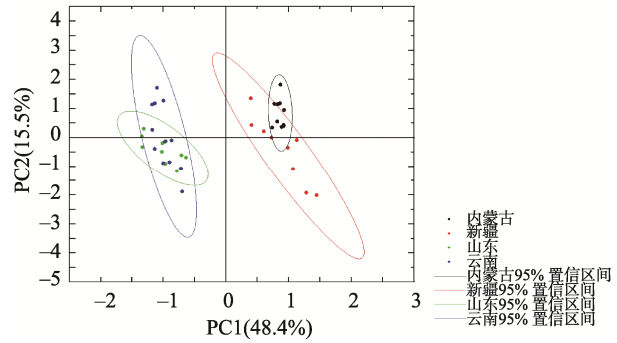


图 1 第一和第二主成分散点图  
Fig.1 Dispersion point diagrams of the first and second main fractions

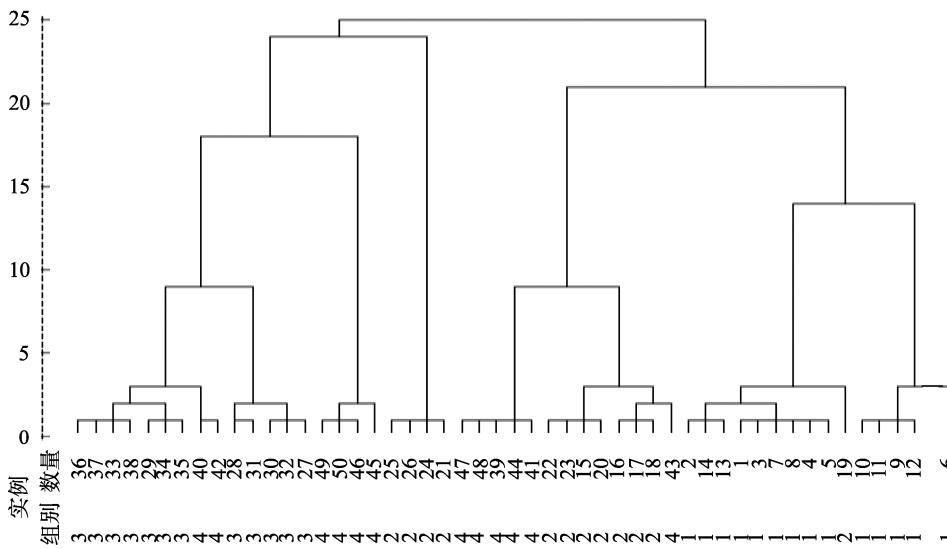


图 2 不同产地来源羊肉样品的聚类树形图  
Fig.2 Cluster tree diagram of mutton samples from different origins

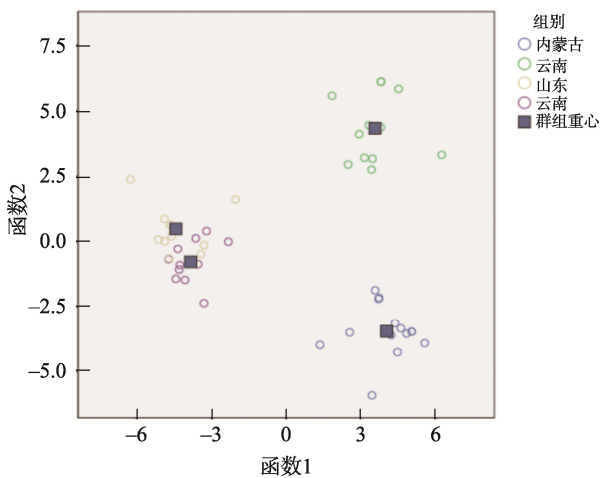


图 3 羊肉样品判别函数得分图  
Fig.3 Score of discriminant function of mutton sample

### 3 结论与讨论

本研究表明不同地域来源羊肉中脂肪酸含量有其各自的特征。云南地区羊肉中 C18:1n9t 和 C18:2n6c 的含量均显著高于其他 3 个地区, 云南和山东 C20:4n6 的含量均显著高于其他 2 个地区, 内蒙古和新疆 C18:3n3 和 C20:5n3 的含量均显著高于其他 2 个地区。这可能与不同地域羊的饲料和喂养方式有关<sup>[21]</sup>。山东和云南属于农区, 主要喂养玉米酒糟和小麦秸秆等精饲料, 这些精饲料中可能 PUFA-n3 (包括 C18:2、C20:4)含量较高。内蒙古和新疆属于牧区, 饲料以牧草为主, 这些牧草中 PUFA-n6 (包括  $\alpha$ -C18:3、C20:5)可能占优势。因此, 在羊主饲料种类和喂养方式差异较大的地域, 利用脂肪酸指纹分析技术进行羊肉产地溯源是可行的。并且通过逐步判别分析, 筛选出 C14:0、C14:1、C18:1n9t、C18:2n6c、C18:3n3、C22:0、

C20:4n6 和 C20:5n3 作为羊肉产地来源的溯源指标<sup>[22]</sup>。运用这些判别指标建立模型, 所得判别模型对羊肉样品的回代检验和交叉检验正确率分别为 100%和 88%。但是, 本研究的样本数量仍然偏少, 来源范围有限, 所建立的模型只能对采样地区的样品进行判别, 尚没有对大的产区进行溯源。因此, 今后需要增加样本数量和来源范围, 进一步建立整个地区的羊肉脂肪酸指纹, 用于溯源。

不同地域来源的羊肉脂肪酸含量有其各自的特征, C10:0、C12:0、C14:0、C14:1、C17:0、C18:1n9t、C18:1n9c、

C18:2n6c、C20:1、C18:3n3、C22:0、C20:4n6、C20:5n3 和 C22:6n3 14 种脂肪酸在 4 个产区间有显著性差异。通过逐步判别分析, 筛选出羊肉中 C14:0、C14:1、C18:1n9t、C18:2n6c、C18:3n3、C22:0、C20:4n6 和 C20:5n3 8 项指标可作为羊肉产地溯源的潜在指标。利用判别指标建立的判别模型对样品的回代检验和交叉检验正确率分别为 100%和 88%, 模型评价效果良好, 证明饲料种类差异大的地域, 利用脂肪酸含量进行羊肉产地溯源是可行的。

表 7 4 个地区羊肉的判别分析结果  
Table 7 Discriminant analysis results of mutton in 4 regions

	原属地区	预测组别				整体	
		内蒙古	新疆	山东	云南		
回代检验	数目	内蒙古	14	0	0	0	14
		新疆	0	12	0	0	12
		山东	0	0	12	0	12
		云南	0	0	0	12	12
	正确率/%	100	100	100	100	100	
交叉检验	数目	内蒙古	13	0	1	0	14
		新疆	1	10	1	0	12
		山东	0	1	10	1	12
		云南	0	0	1	11	12
	正确率/%	92.86	83.33	83.33	91.67	88	

## 参考文献

- [1] FRANKE BM, GREMAUD G, HADORN R, *et al.* Geographic origin of meat-elements of an analytical approach to its authentication [J]. *European Food Res Technol*, 2005, 221(3-4): 493-503.
- [2] 齐婧, 李莹莹, 姜锐, 等. 矿物元素和稳定同位素在肉类食品产地溯源中的应用研究进展[J]. *肉类研究*, 2019, 33(11): 67-72.  
QI J, LI YY, JIANG R, *et al.* Advances in the application of mineral elements and stable isotopes in geographical origin traceability of meat products [J]. *Meat Res*, 2019, 33(11): 67-72.
- [3] (EC)No1760/2000 Laying down the general principles and requirements of food law, establishing the european food safety authority and laying down procedures in matters of food safety [Z].
- [4] 全国人民代表大会常务委员会. 中华人民共和国食品安全法[EB/OL]. [2015-10-01]. <http://down.foodmate.net/ziliao/sort/41/48113.html>. [2021-01-01].  
Standing Committee of the National People's Congress. Food Safety Law of the People's Republic of China [EB/OL]. [2015-10-01]. <http://down.foodmate.net/ziliao/sort/41/48113.html>. [2021-01-01].
- [5] 刘雯雯, 陈岩, 杨慧, 等. 稳定同位素及矿物元素分析在谷物产地溯源中应用的研究进展[J]. *食品科学*, 2019, 40(13): 340-348.  
LIU WW, CHEN Y, YANG H, *et al.* Recent advances in the application of stable isotope and mineral element analysis in tracing the geographical origin of cereal grains [J]. *Food Sci*, 2019, 40(13): 340-348.
- [6] SARA WE, MAGDALENA M, MARIETA VDR, *et al.* Stable isotope ratio analysis: A potential analytical tool for the authentication of south African lamb meat [J]. *Food Chem*, 2016, 192: 997-1005.
- [7] 孙淑敏, 郭波莉, 魏益民, 等. 稳定性氢同位素在羊肉产地溯源中的应用[J]. *中国农业科学*, 2011, 44(24): 5050-5057.  
SUN SM, GUO BL, WEI YM, *et al.* Application of stable hydrogen isotope in the origin traceability of lamb meat [J]. *Sci Agric Sini*, 2011, 44(24): 5050-5057.
- [8] 张德权, 张宁, 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*, 2010, 1: 309-312.  
ZHANG DQ, ZHANG N, LI SR, *et al.* Preliminary study on the origin of mutton by near infrared spectroscopy combined with SIMCA method [J]. *Trans Chin Soc Agric Eng*, 2010, 1: 309-312.
- [9] 孙淑敏, 郭波莉, 魏益民, 等. 近红外光谱指纹分析在羊肉产地溯源中的应用[J]. *光谱学与光谱分析*, 2011, 31(4): 937-941.  
SUN SM, GUO BL, WEI YM, *et al.* Application of near infrared spectral fingerprint analysis in origin traceability of mutton [J]. *Spectrosc Spect Anal*, 2011, 31(4): 937-941.
- [10] 田怀香, 陈彬, 孙学锋, 等. 指纹图谱技术在生鲜乳掺假检测中的研究进展[J]. *食品安全质量检测学报*, 2020, 11(17): 5837-5843.  
TIAN HX, CHEN B, SUN XF, *et al.* Research progress of fingerprinting technology for detection of adulteration in raw milk [J]. *J Food Saf Qual*,



- 2020, 11(17): 5837–5843.
- [11] 程碧君. 基于脂肪酸指纹分析的牛肉产地溯源研究[D]. 北京: 中国农业科学院, 2012.
- CHENG BJ. Study on beef origin traceability based on fatty acid fingerprint analysis [D]. Beijing: Chinese Academy of Agricultural Sciences, 2012.
- [12] 朱喜艳, 曹旭敏, 武田博. 青海牦牛与日本牛动物性食品脂肪酸含量比较分析[J]. 青海畜牧兽医杂志, 2005, (4): 16–17.
- ZHU XY, CAO XM, WU TB. Analysis and comparison of fatty acid content in animal products of Yak and Japanese cattle [J]. Chin Qinghai J Anim Vet Sci, 2005, (4): 16–17.
- [13] FISHER AV, ENSER M, RICHARDSON RI. Fatty acid composition and eating quality of lamb types derived from four diverse breed $\times$ production systems [J]. Meat Sci, 2000, 55(2): 141–147.
- [14] 王彦平, 郭建凤, 呼红梅, 等. 猪肌肉脂肪酸成分的气相色谱测定方法[J]. 畜牧与兽医, 2017, 49(3): 57–61.
- WANG YP, GUO JF, HU HM, *et al.* Method for determination of fatty acid composition of porcine muscle using gas chromatography [J]. Anim Husb Vet Med, 2017, 49(3): 57–61.
- [15] ALONSO-SALCES RM, SEGBARTH N, GARMÓN-LOBATO S, *et al.*  $^1\text{H-NMR}$  and isotopic fingerprinting of olive oil and its unsaponifiable fraction: Geographical origin of virgin olive oils by pattern recognition [J]. Eur J Lipid Sci Technol, 2016, 117(12): 1991–2006.
- [16] LONGOBARDI F, INNAMORATO V, DI GA, *et al.* Geographical origin discrimination of lentils (*Lens culinaris* Medik.) using  $^1\text{H NMR}$  fingerprinting and multivariate statistical analyses [J]. Food Chem, 2017, 237(15): 743.
- [17] LONGOBARDI F, VENTRELLA A, NAPOLI C, *et al.* Classification of olive oils according to geographical origin by using  $^1\text{H NMR}$  fingerprinting combined with multivariate analysis [J]. Food Chem, 2012, 130(1): 177–183.
- [18] 孙淑敏. 羊肉产地指纹图谱溯源技术研究[D]. 咸阳: 西北农林科技大学, 2012.
- SUN SM. Study on the technology of fingerprint traceability of mutton origin [D]. Xi'an: Northwest A & F University, 2012.
- [19] PAN Z, FAN G, YANG RP, *et al.* Discriminating *Lamiophlomis rotata* according to geographical origin by  $^1\text{H-NMR}$  spectroscopy and multivariate analysis [J]. Phytochem Anal, 2015, 26(4): 247.
- [20] CUEVAS FJ, MORENO-ROJAS JM, ARROYO F, *et al.* Effect of management (organic vs conventional) on volatile profiles of six plum cultivars (*Prunus salicina* Lindl.). A chemometric approach for varietal classification and determination of potential markers [J]. Food Chem, 2016, 199(4): 79–84.
- [21] KELLY S, HEATON K, HOOGEWERFF J. Tracing the geographical origin of food: The application of multi-element and multi-isotope analysis [J]. Trend Food Sci Technol, 2005, 16(12): 555–567.
- [22] LONGOBARDI F, VENTRELLA A, BIANCO A, *et al.* Non-targeted  $^1\text{H NMR}$  fingerprinting and multivariate statistical analyses for the characterisation of the geographical origin of Italian sweet cherries [J]. Food Chem, 2013, 141(3): 3028–3033.

(责任编辑: 于梦娇)

## 作者简介

贾菲菲, 硕士, 主要研究方向为食品药品检测。

E-mail: 3946797419@qq.com

曹进, 博士, 研究员, 主要研究方向为食品安全检测。

E-mail: caojin@nifdc.org.cn