

明胶骨原料碳、氮稳定同位素的地域性差异研究

姜迪 姚剑 钱渊 杜林*

(中国科学院上海应用物理研究所熔盐化学与工程技术部, 上海 201800)

摘要:为探讨不同地域来源的明胶骨原料中碳、氮稳定同位素的分布特征及其相关性,本试验采用元素分析-稳定同位素比率质谱仪测定了广西、内蒙古和山东3个主产区的牛骨样品及当地牧草饲料样品中的 ^{13}C 和 ^{15}N 同位素组成,并结合线性回归讨论了牛骨样品中 $\delta^{13}\text{C}$ 和 $\delta^{15}\text{N}$ 值的相关性与牛食谱组成的关系。结果表明,广西地区骨样品中 $\delta^{13}\text{C}$ 和 $\delta^{15}\text{N}$ 值的相关性较好($R^2=0.4018$),而内蒙古和山东地区骨样品中 $\delta^{13}\text{C}$ 和 $\delta^{15}\text{N}$ 值的相关性较差($R^2<0.1$),反映了3地牛食物的来源稳定性及主要成分存在明显差异,对各地牛食谱结构推测的结果与实际牧草饲料样品中 $\delta^{13}\text{C}$ 和 $\delta^{15}\text{N}$ 值的地区分布规律也较为一致。本研究初步揭示了明胶骨原料中碳、氮稳定同位素产生地域性差异的原因,不仅为动物生态学研究提供了有益信息,更为动物制品产地溯源研究提供了新思路。

关键词:骨原料; 稳定同位素; 线性回归; 食谱类型; 产地差异

DOI: 10.11869/j.issn.100-8551.2020.34.0043

动物骨骼是一类重要的明胶生产原料^[1],面对世界范围内疯牛病的频发,我国^[2]及一些欧美国家^[3]都颁布了专门的法规来规范明胶原料的来源,以减少疫情带来的潜在风险。作为骨明胶生产大国,我国在骨原料的进口和供应上有着巨大的市场需求,建立一套科学的骨原料产地溯源体系对明胶产品的质量控制与安全具有重要意义。

稳定同位素分析技术是一种追溯食品产地来源的有效工具^[4],目前已在肉类^[5-7]、乳制品^[8-9]、水产品^[10-11]、蜂蜜^[12]等动物源食品的溯源研究中取得了许多突破。值得关注的是,这些研究对碳、氮稳定同位素的分析通常从其平均值、标准偏差等统计学变量的角度单独进行比较和讨论,可能忽略了2种同位素的线性关系所反映出的有效信息。而在一些考古学及生态学研究中,碳氮稳定同位素的相关性分析已经成为动物食性、河流沉积物有机质来源分析的一种重要研究手段。舒涛等^[13]将线性回归分析方法运用于先民骨胶原中 $\delta^{13}\text{C}$ 和 $\delta^{15}\text{N}$ 的数据分析,发现对于先民骨胶原中 $\delta^{13}\text{C}$ 和 $\delta^{15}\text{N}$ 散点分布相近的不同遗址,通过

分析2种同位素的相关性可以将两处遗址区分,同时揭示了2种同位素相关性与先民食谱组成、食物来源稳定性的关系。Zhou等^[14]通过分析河流悬浮颗粒物、沼泽植物以及沼泽沉积物中 $\delta^{13}\text{C}$ 和 $\delta^{15}\text{N}$ 值,并对河流悬浮颗粒物、沼泽植物中 $\delta^{13}\text{C}$ 和 $\delta^{15}\text{N}$ 进行线性回归分析,发现多数沼泽沉积物的数据分布在回归直线的两个端点上,但更接近悬浮物,说明河流悬浮颗粒物对沼泽沉积物的同位素特征贡献较大。由此可见,科学的数据处理方法对明确物质间存在的稳定同位素差异特征及其之间的相关性具有重要意义。

动物骨骼、肌肉等组织中的 $\delta^{13}\text{C}$ 和 $\delta^{15}\text{N}$ 值与动物食物中的稳定同位素比率特征密切相关^[15],而产地间的不同生产方式又导致了动物食谱结构的差异性,进而使动物组织中 $\delta^{13}\text{C}$ 和 $\delta^{15}\text{N}$ 值产生相应的变化^[16]。因此,通过对动物组织中的 $\delta^{13}\text{C}$ 和 $\delta^{15}\text{N}$ 值进行相关分析,有利于推测动物的摄食情况并明确稳定同位素地域性差异产生的原因。

此前,本团队已经对稳定同位素技术应用于明胶骨原料产地溯源的可行性进行了初步研究,结果显示

收稿日期: 2020-11-26 接受日期: 2021-01-07

基金项目: 中国科学院国际伙伴计划项目(1A1111KY5B20180007),国家自然科学基金青年科学基金项目(21906164),国家自然科学基金青年科学基金项目(11705267)

作者简介: 姜迪,女,助理工程师,主要从事同位素技术应用研究。E-mail: jiangdi@sinap.ac.cn

* 通讯作者: 杜林,男,高级工程师,主要从事同位素技术应用研究。E-mail: dulin@sinap.ac.cn

骨原料中 $\delta^{13}\text{C}$ 和 $\delta^{15}\text{N}$ 值具有明显的地域分布差异^[17], 但并未深入探讨二者的关联性。在此背景下, 本研究拟通过对骨样品中的 $\delta^{13}\text{C}$ 和 $\delta^{15}\text{N}$ 值进行线性回归分析, 了解各地骨样品中这 2 种稳定同位素组成的线性相关性与动物食谱结构之间的关系, 以期为骨原料产地溯源技术的推广与应用奠定基础。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

牛骨样品和牧草饲料样品采自我国 3 个主要的畜牧业主产区, 同时也是主要的骨原料来源地(广西省、内蒙古自治区和山东省) 具体信息见表 1。

表 1 骨原料、牧草饲料样品信息

Table 1 The information of bone samples and forage samples

采样地 Sampling location	骨样 信息 Information of bone samples	骨样 个数 Number of bone samples	牧草(饲料) 样品个数 Number of forage samples	采样时间 (年-月) Sampling date (year-month)	采样地地理信息 Geographic information of sampling location	
					经度 Longitude	纬度 Latitude
广西省, 马山县 Mashan County, Guangxi Province	牛棒骨	16	4	2018—11	108°17'E	23°72'N
内蒙古自治区, 呼伦贝尔市 Hulun Buir City, Inner Mongolia Autonomous Region	牛棒骨	15	4	2018—12	115°31'~126°04'E	47°05'~53°20'N
山东省, 菏泽市 Heze City, Shandong Province	牛棒骨	16	3	2019—1	114°45'~116°25'E	34°39'~35°52'N

国际原子能机构(International Atomic Energy Agency, IAEA, 维也纳, 奥地利) 的一级标准物质 IAEA-600 (咖啡因, $\delta^{13}\text{C}_{\text{V-PDB}} = -27.771\text{‰} \pm 0.043\text{‰}$, $\delta^{15}\text{N}_{\text{Air}} = 1.0\text{‰} \pm 0.2\text{‰}$) 用于稳定同位素比率分析。

1.2 仪器与设备

Flash 2000HT 元素分析仪、MAT 253 同位素比质谱仪 美国赛默飞世尔公司; DFT 200C 粉碎机, 上海比朗仪器制造有限公司; PS300 立式离心机, 江苏捷达离心机制造厂; CG089 蒸煮器, 滨州奥马电器有限公司; GRP-180 砸骨机, 廊坊冠通机械有限公司; EML 200 dp 自动筛分仪, 德国哈佛博克公司。

1.3 试验方法

1.3.1 样品前处理 新鲜骨样品的预处理方法与骨明胶生产中骨原料的前处理方法一致(图 1)^[18], 且已有研究表明蒸煮等加工过程对动物组织中的稳定碳、氮同位素分馏几乎无影响^[19]。首先将采集到的新鲜骨样品清洗干净并剔除表面残留的肉、筋、膜等非骨组织, 使用砸骨机及筛网得到直径 20 mm 左右的骨粒样品, 随后置于蒸煮器中于 85~95℃ 蒸煮约 6~12 min, 待油脂浸出后使用离心机进行脱脂, 骨粒的残油率控制在 5% 以内。脱脂后的骨粒置于 60℃ 烘箱中干燥 24~48 h 并密封保存。上机分析前, 使用粉碎机将脱脂后的骨粒样品制备为粉末并置于 105℃ 烘箱中干燥 12 h 以上^[20-21]。

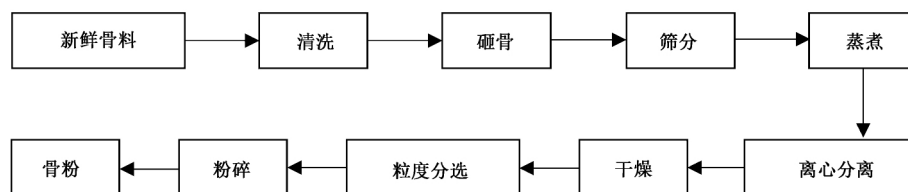


图 1 新鲜骨原料前处理流程示意图

Fig.1 The pretreatment process of fresh bone samples

牧草样品用去离子水洗去表面泥土、杂质并剔除动物不食用部分后, 于 70℃ 烘箱中干燥 36 h, 饲料样品于 105℃ 烘箱中干燥 12 h, 之后用粉碎机将样品粉碎并过 250 μm 筛(60 目), 干燥密封保存待测^[22]。

1.3.2 稳定同位素 $\delta^{13}\text{C}$ 和 $\delta^{15}\text{N}$ 值的测定 采用元素分析-稳定同位素比质谱仪(elemental analyzer-isotope ratio mass spectrometry, EA-IRMS) 测定骨原料及牧草饲料中的 $\delta^{13}\text{C}$ 和 $\delta^{15}\text{N}$ 值, 称取 0.3 mg (^{13}C) / 2 mg

(¹⁵N) 左右经过前处理的样品,包在锡杯中经自动进样器送入 EA 氧化还原炉,样品中的碳元素在氧化还原炉(980°C)内反应生成 CO₂,氮元素反应生成 N₂;生成的 CO₂ 和 N₂ 经过色谱柱分离纯化后进入 IRMS 测定样品中的 δ¹³C、δ¹⁵N 值。稳定同位素比率用 δ 表示,其计算公式为:

$$\delta = (R_{\text{样品}} - R_{\text{标准}}) / R_{\text{标准}} \times 1000\text{‰} \quad (1)$$

式中 *R* 为轻重同位素丰度比,即¹³C/¹²C 或¹⁵N/¹⁴N。^{δ¹³C} 采用的国际相对标准为 V-PDB ^{δ¹⁵N} 为 Air。

稳定同位素比率数据的校正采用单点法,计算公式为:

$$\delta_{\text{spl}}^T = \frac{(\delta_{\text{spl}}^M + 1000) \times (\delta_{\text{std}}^T + 1000)}{\delta_{\text{std}}^M + 1000} - 1000 \quad (2)$$

式中,δ_{spl}^T 为样品稳定同位素真实比值,δ_{spl}^M 为样品稳定同位素测量比值,δ_{std}^T 为国际标准物质 (IAEA-600) 稳定同位素真实比值,δ_{std}^M 为国际标准物质 (IAEA-600) 稳定同位素测量比值。

1.3.3 数据分析 采用 Origin 8.5 对数据进行线性回归并利用结果中的 Pearson 相关系数分析变量之间的相关性。

2 结果与分析

2.1 不同地区骨原料中碳、氮稳定同位素的相关性分析

前期研究^[17]发现 3 个地区骨原料中的碳、氮稳定同位素均有各自的分布特征,内蒙古骨样品的 δ¹³C 值 (-17.75‰ ± 3.71‰) 显著低于广西 (-13.35‰ ± 2.54‰) 和山东 (-13.34‰ ± 0.94‰) 的样品;广西 (6.08‰ ± 0.89‰) 和内蒙古 (5.96‰ ± 0.90‰) 骨样品的 δ¹⁵N 值显著高于山东 (3.60‰ ± 0.81‰) 的样品。

在分析骨样品中 δ¹³C 和 δ¹⁵N 值的相关性之前,根据样品 δ¹³C 和 δ¹⁵N 值的分布特点对牛的食物类型进行简化假设^[13]结果如图 2-a 所示,完全食用 C₃ 植物或 C₄ 植物的牛,其骨样品中的 δ¹³C 分别取值为 -20.950‰ 和 -11.201‰,完全食用天然牧草或合成饲料的牛,其骨样品中的 δ¹⁵N 分别取值为 7.093‰ 和 2.002‰。图中的 4 个端点则代表了 4 种基本食物类型,例如若牛完全食用某种 C₃ 天然牧草,其骨样品的 δ¹³C 和 δ¹⁵N 值将集中于 (-20.950, 7.093) 点上;同

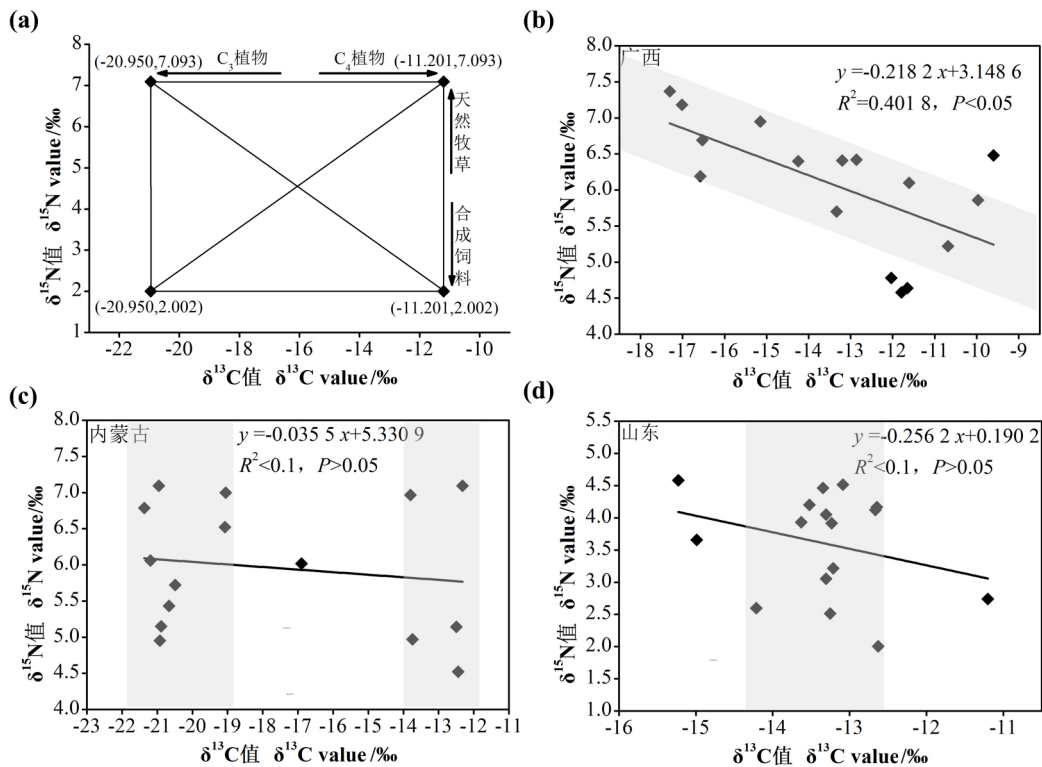


图 2 牛的食物基本类型简化假设 (a) 及广西、内蒙古、山东骨原料中 δ¹³C 和 δ¹⁵N 的相关性分析 (b~d)

Fig.2 Simplified hypothesis diagram of basic feed type for cattle (a), and diagram of correlation analysis on

理,若牛同时食用2种基本食物类型,其骨样品的 $\delta^{13}\text{C}$ 和 $\delta^{15}\text{N}$ 值将分布在这2种基本食物类型的连线上;若牛的食谱中包括了全部4种基本食物类型,其骨样品的 $\delta^{13}\text{C}$ 和 $\delta^{15}\text{N}$ 值将分布在这4种基本食物类型组成的平面上。

对广西骨样品的 $\delta^{13}\text{C}$ 和 $\delta^{15}\text{N}$ 值进行线性回归分析,结果如图2-b所示。2种稳定同位素的相关系数 R^2 为0.4018,且相关性达到了显著性水平($P < 0.05$)。线性程度良好。结合图2-a可知,当地牛的食谱主要由 C_3 天然牧草和 C_4 天然牧草这2种主要成分以不同的比例组成,但大部分数据更接近于 C_4 天然牧草,说明广西地区牛的食谱结构中 C_4 天然牧草比例较高,对牛组织中碳、氮同位素特征的贡献较大。

由图2-c可知, $\delta^{13}\text{C}$ 和 $\delta^{15}\text{N}$ 值在内蒙古地区骨样品中无明显相关性,但总体上数据主要集中于2个独立区域,分别是 C_3 天然牧草和 C_4 天然牧草,说明内蒙古地区牛的食谱结构为单一的 C_3 天然牧草或单一的 C_4 天然牧草,其中食用 C_3 天然牧草的牛群体数量较多。

由图2-d可知, $\delta^{13}\text{C}$ 和 $\delta^{15}\text{N}$ 值同样在山东地区骨样品中无明显相关性,但总体上数据主要集中于在1个独立区域,近似于回归直线斜率趋近于无穷大时的

情况,即该地区牛的食谱结构主要是单一的 C_4 人工合成饲料(种植牧草),几乎无 C_3 牧草(饲料)的份额。

2.2 不同地区牧草饲料样品碳、氮稳定同位素的分布特征

为了进一步探讨相关分析结果与实际样品的对应关系,本研究对3个地区采集的牧草及饲料样品的 $\delta^{13}\text{C}$ 和 $\delta^{15}\text{N}$ 值进行了测定,结果如表2所示。

据采样中调研得到的信息,广西地区的牛以散养采食田间牧草为主,本次采集的4种牧草样品中,既有天然 C_3 牧草也有受到农业生产影响 $\delta^{15}\text{N}$ 贫化的 C_4 植物,与相关性分析的结论部分一致;内蒙古地区牧草资源丰富,4种牧草样品均为 C_3 天然牧草,与图2-c的分析结果也一致,但由于采样量较少,并不能完全反映该地所有的牧草类型;山东是我国重要的农业主产区之一,玉米是当地的主要粮食作物,当地牛的饲料通常以玉米或玉米杆为主要成分,当地采集的3种饲料样品中的 $\delta^{13}\text{C}$ 和 $\delta^{15}\text{N}$ 值也反映出牛的主要食物类型为 $\delta^{15}\text{N}$ 严重贫化的 C_4 植物,可能是由于玉米等农作物在种植过程中通常都被施加了人工合成化肥^[23],与相关性分析所得结果即当地牛的主要食物类型是 C_4 人工合成饲料(种植牧草)是一致的。

表2 3个地区牧草和饲料样品的 $\delta^{13}\text{C}$ 、 $\delta^{15}\text{N}$ 值

Table 2 $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$ value of forage samples from three regions

‰

广西 Guangxi			内蒙古 Inner Mongolia			山东 Shandong		
编号 Number	$\delta^{13}\text{C}$	$\delta^{15}\text{N}$	编号 Number	$\delta^{13}\text{C}$	$\delta^{15}\text{N}$	编号 Number	$\delta^{13}\text{C}$	$\delta^{15}\text{N}$
1	-31.389±0.154	4.071±0.206	5	-27.689±0.300	5.430±0.185	9	-14.884±0.926	-1.037±0.131
2	-31.890±0.345	2.197±0.137	6	-26.020±0.191	1.418±0.076	10	-15.943±0.447	0.586±0.202
3	-13.509±0.654	0.726±0.091	7	-27.217±0.263	3.684±0.008	11	-10.128±0.523	-2.307±0.115
4	-14.281±0.150	-0.857±0.101	8	-26.364±0.147	2.213±0.019			

3 讨论

近年来,基于稳定同位素特征的动物源产品产地溯源技术已经成为评估动物源产品安全性和真实性的重要手段^[24],该技术对明胶骨原料产地溯源的可行性也得到了验证^[17]。通过科学方法多角度多层次分析不同地域来源骨原料中的稳定同位素差异特征能为骨原料及明胶产品产地溯源数据库的建设提供理论支撑。研究表明,动物组织中的 $\delta^{13}\text{C}$ 值与其食谱结构中 C_3 和 C_4 植物的比例相关,食谱结构中 C_3 植物的比例越高,其组织中 $\delta^{13}\text{C}$ 的负值就越大,对于动物组织中

的 $\delta^{15}\text{N}$,研究发现牛、羊等草食性动物组织中 $\delta^{15}\text{N}$ 值主要取决于其饲料的 $\delta^{15}\text{N}$ 值^[25]。国内外相关研究报道也通常是从以上两个角度单独分析动物组织中的碳、氮稳定同位素差异,而将 $\delta^{13}\text{C}$ 和 $\delta^{15}\text{N}$ 数据视为一个整体,通过讨论其相关性了解不同地区动物食谱结构差异仍缺乏相关基础性研究,只有考古学和生态学中对动物食性的研究有过类似的报道^[13,26-27]。与前人研究相比,本研究不仅通过骨原料中 $\delta^{13}\text{C}$ 和 $\delta^{15}\text{N}$ 值的相关分析发现了3个产区动物食谱结构的明显差异,还利用实际牧草饲料样品对推测的结果进行了验证。相关性分析结果显示,广西地区骨样品的 $\delta^{13}\text{C}$ 和 $\delta^{15}\text{N}$ 值相关性较强,反映了该地区牛的食谱结构组合

较为稳定,个体之间的差异主要取决于食物中回归直线 2 个端点上植物的比例;内蒙古和山东地区骨样品的 $\delta^{13}\text{C}$ 和 $\delta^{15}\text{N}$ 值相关性较差,反映了该地区牛的食谱结构比较单一但途径多样,两地区骨样中 $\delta^{13}\text{C}$ 值分布集中在 1 或 2 个独立的区域, $\delta^{15}\text{N}$ 值则较为分散,这是因为动物组织中的 $\delta^{13}\text{C}$ 值主要与其食用的植物种类有关,受地域等的影响较小^[28],而 $\delta^{15}\text{N}$ 值变化规律复杂,除了受其食物在种植过程中是否施加合成化肥的影响,还受到当地土壤类型以及食物中固氮类植物比例的影响^[29]。本研究为分析动物组织中碳、氮稳定同位素的产地差异提供了新的角度,可以在对动物摄食情况未知的情况下科学推测其食谱结构,同时也有助于不同地区样品的 $\delta^{13}\text{C}$ 和 $\delta^{15}\text{N}$ 散点分布在重叠的情况下发现不同地区动物食谱类型的差别,阐明动物组织中稳定碳氮同位素产生地域性差异的原因。不足之处在于本研究的骨原料样品和实际牧草饲料样品采集主要集中于特定省份的某个区域,采样范围较小,所采集的样品数量较少,后续可扩大采样量和采样区域,对现有结论进行优化和补充,进一步加强对溯源机理的理解。

4 结论

本研究通过线性回归分析讨论了不同地区骨原料中 $\delta^{13}\text{C}$ 和 $\delta^{15}\text{N}$ 值的相关性并对各地牛的食谱结构进行了推测,同时结合各地实际牧草饲料样品中 $\delta^{13}\text{C}$ 和 $\delta^{15}\text{N}$ 值对推测的结果进行了验证。相关分析发现不同地区牛的食谱结构存在明显差异,广西地区的牛以不定的比例混食 C_4 天然牧草和 C_3 天然牧草,内蒙古地区的牛单独食用 C_4 天然牧草或 C_3 天然牧草,山东地区的牛食谱类型较为单一,以 C_4 人工合成饲料为主,与牧草饲料样品的分析结果基本一致,表明使用相关分析解读动物食谱结构信息是可行的,有助于深入剖析动物组织中稳定碳氮同位素产生地域性差异的原因,对动物源食品稳定同位素溯源技术的应用推广具有指导意义。

参考文献:

- [1] Said M. Role and function of gelatin in the development of the food and non-food industry: A review [C]//IOP Conference Series: Earth and Environmental Science. IOP Publishing, 2020, 492: 012086
- [2] 李宝林. 从控制生产原料卫生标准开始确保明胶使用安全[J]. 中国当代医药, 2012, 19(31): 154-156
- [3] Regenstein J M, Zhou P. Collagen and Gelatin from Marine By-products: Maximising the Value of Marine By-products [M]. 1st edn. Cambridge: Woodhead Publishing, 2007: 279-303
- [4] Cuadros-Rodríguez L, Ruiz-Samblás C, Valverde-Som L, Pérez-Castaño E, González-Casado A. Chromatographic fingerprinting: An innovative approach for food 'identification' and food authentication—A tutorial [J]. Analytica Chimica Acta, 2016, 909: 9-23
- [5] Erasmus S W, Muller M, van der Rijst M, Hoffman L C. Stable isotope ratio analysis: A potential analytical tool for the authentication of South African lamb meat [J]. Food Chemistry, 2016, 192: 997-1005
- [6] Zhao Y, Zhang B, Guo B, Wang D H, Yang S M. Combination of multi-element and stable isotope analysis improved the traceability of chicken from four provinces of China [J]. CyTA—Journal of Food, 2016, 14(2): 163-168
- [7] Nie J, Shao S Z, Xia W, Liu Z, Yu C C, Li R, Wang W, Li J R, Yuan Y W, Rogers K M. Stable isotopes verify geographical origin of yak meat from Qinghai-Tibet plateau [J]. Meat Science, 2020, 165: 108113
- [8] Luo D H, Dong H, Luo H Y, Xian Y P, Guo X D, Wu Y L. Multi-element (C, N, H, O) stable isotope ratio analysis for determining the geographical origin of pure milk from different regions [J]. Food Analytical Methods, 2016, 9(2): 437-442
- [9] Bontempo L, Barbero A, Bertoldi D, Camin F, Larcher R, Perini M, Sepulcri A, Zicarelli L, Piasentier E. Isotopic and elemental profiles of Mediterranean buffalo milk and cheese and authentication of Mozzarella di Bufala Campana PDO: An initial exploratory study [J]. Food Chemistry, 2019, 285: 316-323
- [10] Camin F, Perini M, Bontempo L, Galeotti M, Tibaldi E, Piasentier E. Stable isotope ratios of H, C, O, N and S for the geographical traceability of Italian rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) [J]. Food Chemistry, 2018, 267: 288-295
- [11] Kang X M, Zhao Y F, Shang D R, Zhai Y X, Ning J S, Ding H Y, Sheng X F. Identification of the geographical origins of sea cucumbers in China: The application of stable isotope ratios and compositions of C, N, O and H [J]. Food Control, 2020, 111: 107036
- [12] Dinca O R, Ionete R E, Popescu R, Costinel D, Radu G L. Geographical and botanical origin discrimination of romanian honey using complex stable isotope data and chemometrics [J]. Food Analytical Methods, 2015, 8(2): 401-412
- [13] 舒涛, 吴小红. 线性回归分析方法在碳、氮稳定同位素食性研究中的应用 [J]. 文物世界, 2015(4): 69-72
- [14] Zhou J L, Wu Y, Zhang J, Kang Q S, Liu Z T. Carbon and nitrogen composition and stable isotope as potential indicators of source and fate of organic matter in the salt marsh of the Changjiang Estuary, China [J]. Chemosphere, 2006, 65(2): 310-317
- [15] Monahan F J, Schmidt O, Moloney A P. Meat provenance: Authentication of geographical origin and dietary background of meat [J]. Meat Science, 2018, 144: 2-14
- [16] Zhao Y, Tu T, Tang X Y, Zhao S S, Qie M J, Chen A L, Yang S

- M. Authentication of organic pork and identification of geographical origins of pork in four regions of China by combined analysis of stable isotopes and multi-elements[J]. *Meat Science*, 2020, 165: 108129
- [17] Jiang D, Du L, Guo Y C, Ma J F, Li X Y, Han L, Xu Y S, Qian Y. Potential use of stable isotope and multi-element analyses for regional geographical traceability of bone raw materials for gelatin production[J]. *Food Analytical Methods*, 2020, 13(3): 762-769
- [18] 周世海. 骨明胶生产[J]. *明胶科学与技术*, 2005(3): 131-141
- [19] 包小平, 贺媛媛, 孙倩倩, 魏益民, 郭波莉. 稳定碳、氮同位素在牛肉加工过程中的分馏效应[J]. *核农学报*, 2020, 34(9): 1983-1989
- [20] Tomaszewicz C N T, Seminoff J A, Ramirez M D, Kurle C M. Effects of demineralization on the stable isotope analysis of bone samples[J]. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, 2015, 29(20): 1879-1888
- [21] Tatsch A C C, Secchi E R, Botta S. Effects of acidification, lipid removal and mathematical normalization on carbon and nitrogen stable isotope compositions in beaked whale (*Ziphiidae*) bone[J]. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, 2016, 30(3): 460-466
- [22] 李银风. 青藏高原高寒牧区土-草-畜-人物质循环过程中稳定碳、氮同位素的分析[D]. 兰州: 兰州大学, 2016
- [23] Inácio C T, Urquiaga S, Chalk P M, Mata M G F, Souza P O. Identifying N fertilizer regime and vegetable production system in tropical Brazil using ^{15}N natural abundance [J]. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 2015, 95(15): 3025-3032
- [24] Camin F, Bontempo L, Perini M, Piasentier E. Stable isotope ratio analysis for assessing the authenticity of food of animal origin [J]. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 2016, 15(5): 868-877
- [25] Sun S M, Guo B L, Wei Y M. Origin assignment by multi-element stable isotopes of lamb tissues [J]. *Food Chemistry*, 2016, 213: 675-681
- [26] Borrell A, Aguilar A, Gazo M, Kumarran R P, Cardona L. Stable isotope profiles in whale shark (*Rhincodon typus*) suggest segregation and dissimilarities in the diet depending on sex and size [J]. *Environmental Biology of Fishes*, 2011, 92(4): 559-567
- [27] Buchardt B, Buncho V, Helin P. Fingernails and diet: Stable isotope signatures of a marine hunting community from modern Uummannaq, North Greenland [J]. *Chemical Geology*, 2007, 244(1/2): 316-329
- [28] Schwertl M, Auerswald K, Schäufele R, Schnyder H. Carbon and nitrogen stable isotope composition of cattle hair: Ecological fingerprints of production systems? [J]. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 2005, 109(1/2): 153-165
- [29] Piasentier E, Valusso R, Camin F, Versini G. Stable isotope ratio analysis for authentication of lamb meat [J]. *Meat Science*, 2003, 64(3): 239-247

Regional Differences of Carbon and Nitrogen Stable Isotopes in Bone Raw Materials for Gelatin Production

JIANG Di YAO Jian QIAN Yuan DU Lin*

(Department of Molten Salt Chemistry and Engineering , Shanghai Institute of Applied Physics , Chinese Academy of Sciences , Shanghai 201800)

Abstract: In order to analyze the regional distribution characteristics of the carbon and nitrogen stable isotopes in bone raw materials for gelatin production , C and N isotopic compositions in bovine bone samples and forage samples from three different provinces (including Guangxi , Inner Mongolia and Shandong) were determined using elemental analyzer–isotope ratio mass spectrometry. The relationship between the correlation on $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$ in bovine bone samples and local cattle's diet composition were also discussed by linear regression analysis. The results showed that $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$ in bone samples from Guangxi correlated well ($R^2=0.4018$) , while the correlation on $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$ in bone samples from Inner Mongolia and Shandong was poor ($R^2 < 0.1$) , indicating that the stability and main components of local cattle's diet were obviously different among the three regions. Moreover , the conjectures of local cattle's diet composition were consistent with the regional distribution characteristic of $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$ in actual forage samples. This study preliminaryly revealed the reasons for the regional differences of carbon and nitrogen stable isotopes in bone raw materials , which provides useful information for animal ecology research and a new idea for geographical origin traceability of animal products.

Keywords: bone raw materials , stable isotope , linear regression , feed type , regional differences